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

**Qualidade de escarola minimamente processada em função de métodos de
conservação**

Carlos Dornelles Ferreira Soares

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

**Piracicaba
2016**

Carlos Dornelles Ferreira Soares
Engenheiro Agrônomo

**Qualidade de escarola minimamente processada em função de métodos de
conservação**

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

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

Piracicaba
2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Soares, Carlos Dornelles Ferreira

Qualidade de escarola minimamente processada em função de métodos de conservação / Carlos Dornelles Ferreira Soares. - - Piracicaba, 2016.

141 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Cichorium endivia* var. latifolia L. 2. Atmosfera modificada 3. Armazenamento refrigerado 4. Antioxidantes I. Título

CDD 664.80552
S676q

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

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Carlos e Maria Das Neves e a minha irmã Carla por todo apoio e carinho. Aos amigos que sempre oraram e torceram por mim e que compartilharam bons momentos comigo, os quais considero como família.

Dedico e ofereço.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado e me dado forças todas as vezes que precisei.

Aos meus pais e irmã que tanto me ajudaram nessa fase do mestrado e sempre estiveram me apoiando e me incentivando.

Ao professor Ricardo Alfredo Kluge, pela oportunidade de orientação, amizade e pelos ensinamentos compartilhados, os quais carregarei comigo na vida profissional.

Aos amigos e colegas de trabalho do laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita (PColheit): Natalia Berno, Juliana Tauffer, Jaqueline Uliana, Diego Reartes, Luciane Mendes, Cleucione Pessoa, Ana Preczenhak, Cristiane Calaboni e Paula Silva, por sua amizade, companheirismo e por sempre podermos contar uns com os outros, seja nos quesitos pessoais, científicos e pela ajuda nos experimentos.

A todos os ex e atuais estagiários do PColheit, pela ajuda nos experimentos e companhia, valeu mesmo galera, em especial a Ana Caroline Silva, Sergio Angolini, Allan Vieira, Marcela Barbieri, Erika Natsumi, Bruna Nastaro, Lorena Cordeiro, Laleska Zaghi, Juliana Cristina, Carol Sales, Bruna Felippin.

A Nohama Roque, minha segunda mãe que mesmo de longe, sempre orou por mim e mandou energias positivas.

A minha querida amiga Patrícia da Silva Alexandre, por todo apoio, conselhos e amizade sincera em todos esses anos, obrigado por tudo.

Aos amigos da minha antiga universidade, CCA-UFPB, Erton, Begna e Caio, que mesmo distantes conservaram a amizade e o apoio de sempre desde a nossa graduação, valeu quarteto, vocês são demais.

A minha orientadora da graduação Márcia Roseane Targino, por ter me ajudado a conseguir entrar no mestrado, pela amizade e ensinamentos pessoais e profissionais, sem o seu auxílio, esse trabalho não teria sido realizado.

Ao Laboratório de Pós-colheita de Plantas Hortícolas pelo apoio nos experimentos e amizade, em especial ao Prof. Angelo Jacomino e ao técnico Marcos Trevisan.

Ao Laboratório de Frutas e Hortaliças, em especial a professora Marta Helena Fillet Spoto e ao colega Guilherme Martin, pela parceira e auxílio durante os experimentos.

A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, em especial, a secretária Luciane Aparecida Lopes, pelo suporte acadêmico, apoio e amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo.

Às bibliotecárias da ESALQ, em especial a Eliana, que se dispôs a corrigir o meu trabalho.

À ESALQ pelos recursos disponibilizados, e aos professores e funcionários do Departamento de Produção Vegetal, Ciências Biológicas, Agroindústria, Alimentos e Nutrição.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho, mesmo que não estejam citados aqui, a quem peço humildes e sinceras desculpas.

O meu muito obrigado!

“Um princípio de esperança para se apegar e um novo passo de dança a cada queda, é preciso continuar, por que quem mira de longe pode acertar. Para vencer qualquer inércia vale lutar, para o que oferece resistência poder mudar. E agora a experiência é uma aliada, onde há bondade, impera a inteligência. É preciso continuar, toda etapa do percurso é uma conquista. A cada volta, em cada novo lugar, uma vitória para quem souber enxergar”.

Ludov – Circuito

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
Referências.....	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
2.1 Aspectos gerais da cultura da escarola.....	23
2.2 Processamento mínimo.....	24
2.3 Refrigeração.....	26
2.4 Atmosfera modificada.....	27
2.5 Tratamentos antioxidantes.....	29
Referências.....	31
3 QUALIDADE DA ESCAROLA MINIMAMENTE PROCESSADA ARMAZENADA EM DIFERENTES TEMPERATURAS.....	41
Resumo.....	41
Abstract.....	41
3.1 Introdução.....	42
3.2 Objetivo.....	43
3.3 Materiais e Métodos.....	44
3.3.1 Obtenção da matéria-prima.....	44
3.3.2 Instalação do experimento.....	44
3.3.3 Análises realizadas.....	45
3.3.3.1 Taxa respiratória e produção de etileno.....	45
3.3.3.2 Índice de escurecimento.....	45
3.3.3.3 Cor.....	46
3.3.3.4 Clorofila e carotenoides totais.....	46
3.3.3.5 Teor de ácido ascórbico.....	46
3.3.3.6 Compostos fenólicos totais.....	47
3.3.3.7 Perda de massa.....	47
3.3.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	47
3.4 Resultados e discussão.....	48
3.4.1 Taxa respiratória e produção de etileno.....	48
3.4.2 Índice de escurecimento e cor.....	51
3.4.3 Clorofila e carotenoides totais.....	54

3.4.4 Teor de ácido ascórbico.....	56
3.4.5 Compostos fenólicos totais.....	58
3.4.6 Perda de massa.....	59
3.5 Conclusão.....	60
Referências.....	61
4 QUALIDADE DA ESCAROLA MINIMAMENTE PROCESSADA MANTIDA EM ATMOSFERA MODIFICADA PASSIVA.....	67
Resumo.....	67
Abstract.....	67
4.1 Introdução.....	68
4.2 Objetivo.....	69
4.3 Materiais e Métodos.....	70
4.3.1 Obtenção da matéria-prima.....	70
4.3.2 Instalação do experimento.....	70
4.3.3 Análises realizadas.....	71
4.3.3.1 Concentração de gases no interior das embalagens.....	71
4.3.3.2 Índice de escurecimento.....	71
4.3.3.3 Análise de cor instrumental.....	71
4.3.3.4 Teor de ácido ascórbico.....	72
4.3.3.5 Clorofila e carotenoides totais.....	72
4.3.3.6 Compostos fenólicos totais.....	72
4.3.3.7 Atividade da polifenoloxidase e peroxidase (PPO e POD)	73
4.3.3.8 Perda de massa.....	73
4.3.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	73
4.4 Resultados e discussão.....	74
4.4.1 Concentração de gases no interior das embalagens.....	74
4.4.2 Índice de escurecimento e cor instrumental.....	76
4.4.3 Teor de ácido ascórbico.....	79
4.4.4 Clorofila e carotenoides totais.....	81
4.4.5 Compostos fenólicos totais.....	82
4.4.6 Atividade da PPO e POD.....	84
4.4.7 Perda de massa.....	87
4.5 Conclusão.....	87

Referências.....	88
5 QUALIDADE DA ESCAROLA MINIMAMENTE PROCESSADA TRATADA COM ANTIOXIDANTES.....	95
Resumo.....	95
Abstract.....	95
5.1 Introdução.....	96
5.2 Objetivo.....	98
5.3 Material e Métodos.....	98
5.3.1 Obtenção da matéria-prima.....	98
5.3.2 Instalação do experimento.....	98
5.3.3 Análises realizadas.....	99
5.3.3.1 Concentração de gases no interior das embalagens.....	99
5.3.3.2 Índice de escurecimento.....	99
5.3.3.3 Análise de cor instrumental.....	100
5.3.3.4 Clorofila e carotenoides totais.....	100
5.3.3.5 Perda de massa.....	100
5.3.3.6 Análises microbiológicas.....	100
5.3.3.7 Teor de ácido ascórbico.....	101
5.3.3.8 Compostos fenólicos totais.....	102
5.3.3.9 Atividade das enzimas PPO e POD.....	102
5.3.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	103
5.4 Resultados e discussão.....	103
5.4.1 Concentração de gases na embalagem.....	103
5.4.2 Índice de escurecimento e cor.....	105
5.4.3 Clorofila e carotenoides totais.....	109
5.4.4 Perda de massa.....	111
5.4.5 Análises microbiológicas.....	113
5.4.6 Teor de ácido ascórbico.....	115
5.4.7 Compostos fenólicos totais.....	116
5.4.8 Atividade das enzimas PPO e POD.....	117
5.5 Conclusão.....	121
Referências.....	122
ANEXOS.....	129

RESUMO

Qualidade de escarola minimamente processada em função de métodos de conservação

A escarola é uma das hortaliças folhosas mais consumidas em saladas, considerada um alimento rico em nutrientes e compostos antioxidantes. Devido ao seu preparo trabalhoso, este vegetal apresenta forte potencial para o mercado de produtos minimamente processados, porém, este produto apresenta escurecimento nas folhas durante o armazenamento. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência do armazenamento refrigerado, atmosfera modificada passiva e da aplicação de antioxidantes sobre os aspectos de qualidade da escarola minimamente processada. Foram realizados três experimentos. No primeiro experimento, foi avaliado o efeito do armazenamento em quatro temperaturas 0, 5, 10 e 15°C, por 20 dias a 90-95% UR. No segundo, avaliou-se a utilização da atmosfera modificada passiva pelo acondicionamento do produto em quatro embalagens plásticas: policloreto de polivinila (PVC), polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP) e polipropileno bi-orientado (BOPP), durante o armazenamento a 0°C e 90-95% UR por 20 dias. O último experimento objetivou verificar os efeitos da aplicação dos antioxidantes: ácido ascórbico 1%, ácido cítrico 1%, ácido oxálico 1% e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 2% por 21 dias de armazenamento a 0°C e 90-95% UR. Em todos os experimentos foram realizadas as análises de cor, L, C e a^* e o índice de escurecimento, teor de ácido ascórbico, teor de clorofila total e carotenoides totais, compostos fenólicos totais e perda de massa. Para o experimento de refrigeração, foram realizadas ainda, as análises de taxa respiratória e produção de etileno. Nos experimentos de embalagens e antioxidantes, foram realizados o monitoramento das concentrações internas de O₂ e CO₂ nas embalagens e a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, sendo que para este último experimento, foram realizadas ainda, análises microbiológicas referentes a ausência ou presença de *Salmonella*, quantificação de coliformes totais e bactérias psicrotróficas durante o armazenamento. A temperatura de 0°C é a mais recomendável para a redução de perdas na qualidade da escarola, essa temperatura proporcionou redução da taxa respiratória e perda de massa, bem como foi a que manteve os maiores teores de ácido ascórbico e de pigmentos dessa hortaliça. Sendo que não foram observados sintomas de dano por frio no produto. Dentre os filmes estudados, constatou-se que as concentrações de 16 % de oxigênio e 3% de dióxido de carbono geradas no interior do filme de PVC, proporcionaram o menor escurecimento das folhas e maior conservação dos teores de ácido ascórbico, clorofila e carotenoides totais no produto. Observou-se ainda, que a escarola minimamente processada apresenta sensibilidade a altas concentração de CO₂. Para o último experimento, não foi verificada a presença de *Salmonella* em nenhum dos tratamentos. Entre os antioxidantes aplicados, verificou-se que o tratamento de ácido cítrico 1% é o mais indicado para conservação dos atributos de qualidade da escarola minimamente processada, por ter mantido baixo índice de escurecimento, os maiores teores de pigmentos e alto teor de ácido ascórbico, bem como ter proporcionado baixa perda de massa e desenvolvimento microbiológico dentro dos limites estabelecidos.

Palavras-chave: *Cichorium endivia* var. latifolia L.; Atmosfera modificada; Armazenamento refrigerado; Antioxidantes

ABSTRACT

Quality of minimally processed escarole as function of conservation methods

Escarole is one of the most consumed leafy vegetal in salads, it is considered a rich source of nutrients and antioxidant compounds. Due to his arduous preparation for consumption or preparation of dishes, this vegetable shows a strong potential for fresh cut products market, however, this product exhibits browning on its leaves during storage. The objective of this work was to evaluate the influence of refrigerated storage, passive modified atmosphere and the application of antioxidants on quality aspects of fresh cut escarole. Three experiments were carried out. The first experiment evaluated the effect of four storage temperatures 0, 5, 10 and 15° C, for 20 days to 90-95% RH. In the second one, the effect of the use of passive modified atmosphere was evaluated by four plastic packaging: polyvinyl chloride (PVC), low density polyethylene (LDPE), polypropylene (PP) and bi-oriented polypropylene (BOPP), during storage at 0° C and 90-95% RH for 20 days. The last experiment aimed to check the effects of the application of following antioxidants: ascorbic acid 1%, citric acid 1%, oxalic acid 1% and etilenodiamino tetra-acetic acid (EDTA) 2% for a period of 21 days of storage at 0° C and 90-95% RH. In all experiments were performed the following analysis: color by L, C and °h and observation of browning index, ascorbic acid content, total chlorophyll content, total carotenoids content, total phenolic compounds content and weight loss. For the temperature experiment, the analysis of respiratory rate and ethylene production were also carried out. In the passive modified atmosphere and the antioxidants experiments, the monitoring of concentrations of O₂ and CO₂ in headspace of the packages and the activity of polyphenoloxidase and peroxidase enzymes were also made, and for the last experiment, were carried out microbiological analysis concerning the absence or presence of *Salmonella* and total coliforms and psychrotrophic bacteria counts during storage. The temperature of 0°C is the most recommended for the reduction of losses in the fresh cut escarole quality, that temperature provided respiratory rate reduction and reduction of the weight loss as well as was the one that kept the highest contents of ascorbic acid and pigments. Symptoms of chilling injury were not observed on the product during the storage. Among the films studied, it was found that concentrations of 16% oxygen and 3% carbon dioxide generated inside the PVC film, provided the minor browning index of the leaves and better conservation of levels of ascorbic acid, chlorophyll and carotenoids. It was observed that the fresh cut escarole is sensitivity to high CO₂ concentrations. In the last experiment, the presence of *Salmonella* was not detected on the treatments. Between antioxidants applied, it was found that the treatment of citric acid 1% is the most suitable for the conservation of the fresh cut escarole quality attributes, for keeping low browning index, the highest concentrations of pigments and high content of ascorbic acid, as well as having provided low weight loss and microbiological development within the limits.

Keywords: *Cichorium endivia* var. *latifolia* L.; Modified atmosphere; Cold storage; Antioxidants

1 INTRODUÇÃO

A *Cichorium endivia* var. *latifolia* L. é uma hortaliça da família Asteraceae, que possui folhas largas, alongadas, lisas e com bordas dentados, conhecida popularmente como chicória lisa ou escarola (FILGUEIRA, 2003; CERMEÑO, 1996). A escarola é cultivada na América do Norte, América do Sul, Ásia e Europa (MARSCHEPA et al., 2012). No Brasil, é cultivada nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (FILGUEIRA, 2007; FELTRIM et al., 2006).

A escarola está entre as hortaliças folhosas mais consumidas em saladas (LLORACH et al., 2008). Sendo que ela se destaca entre as demais, devido suas propriedades funcionais, considerada um alimento rico em nutrientes e compostos antioxidantes, possuindo diversas vitaminas tais como as A, B, C, D e E e minerais como o Cálcio, Ferro e Fósforo, além de possuir baixo valor calórico e alto teor de fibras (AHERNE; O'BRIEN, 2002; CARVALHO, 1988; MURILLO; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; PORUGAL, 2010).

Essa hortaliça possui ainda, diversos compostos bioativos como carotenoides, flavonoides e outros compostos fenólicos, os quais promovem benefícios a saúde e previnem doenças degenerativas (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2005; MASCHERPA et al., 2012; TIVERON et al., 2012). Também existem relatos que escarola possui propriedades medicinais, por possuir ação neutralizante sobre ácidos no organismo, aumentar a resistência física, manter a saúde da pele e prevenir a formação de cálculos renais (BALBACH; BOARIM, 1992).

Devido a todo seu potencial alimentício e nutritivo, porém de preparo trabalhoso, a escarola é uma hortaliça apropriada para o processamento mínimo, visto a grande demanda por produtos saudáveis e prontos para o consumo. Produtos minimamente processados (MP) são frutos ou vegetais que foram submetidos a uma sequência de procedimentos que envolvem seleção, lavagem, corte e/ou descasque, embalagem e outros, que disponibilizam um produto ainda fresco, com alto valor nutritivo, sabor e conveniência, pronto para o consumo ou de fácil preparo (OLIVEIRA et al., 2015).

O mercado de produtos MP está entre os segmentos alimentícios que mais cresce, entretanto, esses produtos apresentam curta vida útil e podem perder sua qualidade comercial rapidamente (COZZOLINO et al., 2016; JACXSENS et al., 2000). Isso ocorre devido as etapas de corte ou descasque durante o processamento, que causam alterações no metabolismo dos vegetais, promovendo o aumento da taxa respiratória e da produção de etileno, levando também a perdas na qualidade visual e nutricional, acelerando ainda, o crescimento

microbiano, limitando a vida útil desses produtos (CHITARRA; CHITARRA, 2005; HERNÁNDEZ et al., 2014).

Para manter os aspectos de qualidade dos produtos MP, como boa aparência, cor, sabor, odor e textura característicos, por um período vida útil adequado, deve-se fazer o uso refrigeração e embalagens adequadas (MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2011; ROCCULI et al., 2007). Porém, como cada vegetal possui características fisiológicas próprias, as quais são alteradas pelo processamento mínimo, torna-se necessário a realização de estudos referentes a conservação de cada vegetal em seu estado MP (MORETTI, 2007).

A temperatura do armazenamento é considerada o fator mais importante para a conservação dos produtos MP, pois influencia diretamente a atividade respiratória e as reações metabólicas (JACXSENS et al., 2000). Baixas temperaturas podem diminuir a taxa respiratória e desacelerar os processos degradativos, aumento a vida útil desses produtos (BERNO et al., 2014; SASAKI et al., 2014). A atmosfera modificada é uma técnica que objetiva a redução da concentração de oxigênio e aumento da concentração de dióxido de carbono no interior das embalagens dos produtos MP, fazendo com que, o metabolismo destes seja reduzido (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Quando a utilização da refrigeração e atmosfera modificada não são suficientes para manter a qualidade dos produtos MP durante o período de comercialização, outras técnicas podem ser utilizadas, tais como o uso de antioxidantes, irradiação, recobrimentos comestíveis, tratamentos térmicos, entre outros (KLUGE et al., 2014; HERNÁNDEZ et al., 2014). Entre essas técnicas, a aplicação de antioxidantes é uma das mais pesquisadas e utilizadas, por terem fácil aplicação, baixo custo e apresentar efetividade do tratamento (CENCI, 2011; CEFOLA; PACE, 2015; KLUGE et al., 2014).

A escarola MP é geralmente comercializada nas mesmas embalagens que a alface, entretanto, esse produto apresenta sintomas de escurecimento em suas folhas durante o armazenamento (DEGL'INNOCENTI et al., 2007; SARANTÓPOULOS et al., 2002). Na literatura, existem poucos estudos realizados com a escarola MP, referentes apenas ao risco microbiológico, sensibilidade ao escurecimento e perdas de compostos antioxidantes (ALLENDE et al., 2008; BENNIK et al., 1996; CARLIN; NGUYENTHE; MORRIS, 1996; DELG'INNOCENTI et al., 2007; WULFKUEH et al., 2013). Há carência de estudos envolvendo diferentes tratamentos que visem prolongar a vida útil e a qualidade deste produto, justificando a elaboração deste trabalho de pesquisa.

Referências

- AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, London, v. 18, n. 1, p. 75-81. 2002
- ALLENDE, A.; SELMA, M. V.; LOPEZ-GALVEZ, F.; VILLAESCUSA, R.; GIL, M. I. Impact of wash water quality on sensory and microbial quality, including *Escherichia coli* cross-contamination of fresh-cut escarole. **Journal of Food Protection**, Murcia, v. 71, n. 12, p. 2514-2518, 2008.
- AZEVEDO-MELEIRO, C.H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoids of endive and New Zealand spinach as affected by maturity, season and minimal processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, Paris, v. 18, n.8, p. 845-855, 2005.
- BALBACH, A.; BOARIM, D.S.F. **As hortaliças na medicina natural**. 2. ed. São Paulo: Missionária, 1992. 291 p.
- BENNIK, M.H.J.; PEPPELENBOS, H.W.; NGUYENTHE, C.; CARLIN, F.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M. Microbiology of minimally processed, modified-atmosphere packaged chicory endive. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 209-221, 1996.
- BERNO, N.D.; TEZOTTO-ULIANA, J.V.; SANTOS DIAS, C.T.; KLUGE, R.A. Storage temperature and type of cut affect the biochemical and physiological characteristics of fresh-cut purple onions. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 93, n. 1, p. 91-96. 2014.
- CARLIN, F.; NGUYENTHE, C.; MORRIS, C. E. Influence of background microflora on *Listeria monocytogenes* on minimally processed fresh broad-leaved endive (*Cichorium endivia* var *latifolia*). **Journal of Food Protection**, Domaine, v. 59, n. 7, p. 698-703, 1996.
- CARVALHO, B.A. **Conheça melhor as hortaliças**. Campo Grande: EMPAER, 1988. 71 p. (Documentos, 17).
- CEFOLA, M.; PACE, B. Application of oxalic acid to preserve the overall quality of rocket and baby spinach leaves during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, Bari, v. 39, n. 6, p. 2523-2532, 2015.
- CENCI, S.A. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. 144 p.
- CERMEÑO, Z.S. **Viente cultivos de hortalizas en invernadero**. Sevilla: RALI, 1996. 638 p.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**, 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.
- COZZOLINO, R.; MARTIGNETTI, A.; PELLICANO, M. P.; STOCCHERO, M.; CEFOLA, M.; PACE, B.; DE GIULIO, B. Characterization of volatile profile and sensory analysis of fresh-cut "Radicchio di Chioggia" stored in air or modified atmosphere. **Food Chemistry**, New York, v. 192, n. 1, p. 603-611, 2016.

DEGL'INNOCENTI, E.; PARDOSSI, A.; TOGNONI, F.; GUIDI, L. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarole' and 'rocket salad' when stored as fresh-cut products. **Food Chemistry**, New York, v. 104, n. 1, p. 209-215, 2007.

FELTRIM, A.L.; CECÍLIO FILHO, A.B.; REZENDE, B.L.A.; BARBOSA, J.C. Produção de chicória em função do período de cobertura com tecido de polipropileno. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 249-254, 2006.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003. 412 p.

_____. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção de hortaliças. 3. ed. Viçosa: UFV, 2007. 421 p.

HERNÁNDEZ, A.E.; MÁRQUEZ CARDOZO, C.J.; RESTREPO FLORES, C.E.; CANO SALAZAR, J.A.; PATIÑO GÓMEZ, J.H. Aplicación de tratamiento térmico, recubrimiento comestible y baño químico como tratamientos poscosecha para la conservación de hortalizas mínimamente procesadas. **Acta Agronómica**, Colombia, v. 63, n. 1, p. 1-10, 2014.

JACXSSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; RUDDER, T.; DEBEVERE, J. Designing equilibrium modified atmosphere packages for fresh-cut vegetables subjected to changes in temperature. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie Food Science and Technology**, Georgia, v. 33, n. 1, p. 178–187, 2000.

KLUGE, R.A.; GEERDINK, G.M.; TEZOTTO-ULIANA, J.V.; DANELON GUASSI, S.A.; ZORZETO, T.Q.; CERQUEIRA SASAKI, F.F.; MELLO, S.D.C. Qualidade de pimentões amarelos minimamente processados tratados com antioxidantes, **Semina. Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 801-811, 2014.

LLORACH, R.; MARTINEZ-SANCHEZ, A.; TOMAS-BARBERAN, F.A.; GIL, M.I.; FERRERES, F. Characterization of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. **Food Chemistry**, New York, v. 108, n. 3, p. 1028-1038, 2008.

MANOLOPOULOU, E.; VARZAKAS, T. Effect of storage conditions on the sensory quality, colour and texture of fresh-cut minimally processed cabbage with the addition of ascorbic acid, citric acid and calcium chloride. **Food and Nutrition Sciences**, Bologna, v. 2, n. 1, p. 956-963, 2011.

MASCHERPA, D.; CARAZZONE, C.; MARRUBINI, G.; GAZZANI, G.; PAPETTI, A. Identification of phenolic constituents in *Cichorium endivia* Var. *crispum* and Var. *latifolium* salads by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 60, n. 49, p. 12142-12150, 2012.

MORETTI, C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças; Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, 2007. 531 p.

MURILLO, E.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.; PORUGAL, F. Screening of vegetables and fruits from Panama for rich sources of lutein and zeaxanthin. **Food Chemistry**, New York, v. 122, p. 167-172, 2010.

OLIVEIRA, M.; ABADIAS, M.; USALL, J.; TORRES, R.; TEIXIDO, N.; VINAS, I. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 46, n. 1, p. 13-26, 2015.

ROCCULI, P.; GALINDO, F.G.; MENDONZA, F.; WADSÖ, L.; ROMANI, S.; DALLA ROSA, M.; SJÖHOLM, I. Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 151-157, 2007.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; OLIVEIRA, T.B.F. Avaliação de embalagens de hortaliças folhosas minimamente processadas do mercado brasileiro. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 5, n. 1, p. 53-60, 2002.

SASAKI, F.F.C.; DEL AGUILA, J.S.; GALLO, C.R.; JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A. Physiological, qualitative and microbiological changes of minimally processed squash stored at different temperatures. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, México, v. 15, n. 2, p. 210-220, 2014.

TIVERON, A.P.; MELO, P.S.; BERGAMASCHI, K.B.; VIEIRA, T.M.F.S.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; ALENCAR, S.M. Antioxidant Activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 13, n. 7, p. 8943-8957, 2012.

WULFKUEHLER, S.; KURFISS, L.; KAMMERER, D. R.; WEISS, A.; SCHMIDT, H.; CARLE, R. Impact of different washing procedures on quality of fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.) and endive (*Cichorium endivia* L.). **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 236, n. 2, p. 229-241, 2013.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais da cultura da escarola

A *Cichorium endivia* L. é uma hortaliça herbácea da família Asteraceae, originária da Índia oriental, que possui caule diminuto e folhas largas e alongadas. Existem duas variedades conhecidas: *Cichorium endivia* var. *crispa* L., que é a chicória ou chicória crespa, de folhas recortadas, divididas e retorcidas e, a *Cichorium endivia* var. *latifolia* L., de folhas lisas e bordos dentados, considerada a mais valorizada e consumida no Brasil, conhecida popularmente como escarola ou chicória lisa (FILGUEIRA, 2003, 2007; CERMEÑO, 1996).

A escarola é cultivada na América do Norte, América do Sul, sudoeste Asiático e Europa (MARSCHEPA et al., 2012). No Brasil, é cultivada nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Considerada como cultura de inverno, ela apresenta maior produção sob temperaturas amenas, embora existam cultivares tolerantes a altas temperaturas. Geralmente, ela é semeada no outono-inverno, porém pode-se plantar ao longo do ano, em regiões de altitude (CARVALHO, 1988; FILGUEIRA, 2007; FELTRIM et al., 2006).

O estado de São Paulo é o principal produtor de escarola do Brasil, seguido dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Paraná (CARVALHO et al., 2013). De acordo com dados do Entrepasto Terminal São Paulo (ETSP) foram comercializadas cerca de 5,19 toneladas de escarola em 2015 (JORNAL ENTREPOSTO, 2016). Segundo dados do Instituto de Economia Agrícola e da Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (IEC/CATI) de 2012, só no estado de São Paulo, foram registrados 952 ha de área cultivada, com uma produção média de 11,105 toneladas (CAMARGO FILHO; OLIVEIRA, 2012).

A cultivar de escarola Amazonas Gigante estudada neste trabalho, caracteriza-se por apresentar porte grande, com folhas largas e lisas, medindo entre 32-38 cm de diâmetro, sendo considerada a maior cultivar do grupo das escarolas. Essa cultivar apresenta vantagens comparada as demais, considerando a sua maior tolerância ao frio e pelo seu vigor, apresentando folhas tenras com cor mediana do verde, possuindo aparência atraente, ótimo sabor e alto valor comercial (FILGUEIRA, 2000).

Alguns autores indicam o uso da escarola como planta medicinal, por possuir ação neutralizante sobre ácidos no organismo, aumentar a resistência física, manter a saúde da pele e, por possui propriedades que estimulam o fígado e a vesícula, prevenindo a formação de cálculos nessa última, bem como nos rins e bexiga (BALBACH; BOARIM, 1992). De acordo

com Feltrim et al. (2008), a escarola pode ser consumida como salada ou refogada e, independente da forma de consumo, é considerada um alimento rico em nutrientes e compostos antioxidantes.

A escarola é geralmente comparada à alface, sendo um pouco mais fibrosa e possuindo sabor amargo, entretanto possui qualidade superior no que se refere à rusticidade (FRANCISCO NETO, 2002). O amargor das folhas se deve a compostos glicosídeos, dos quais se destaca a inulina, que estimula o apetite e a digestão (PETERS; VAN AMERONGEN, 1998). Trabalhos mostram que a quantidade de vitaminas e minerais na escarola é superior do que a encontrada em alface (RYDER, 1998; KOUDELA; PETŘÍKOVÁ, 2000).

A escarola possui as vitaminas A, B1, B2, C, D e E, sendo também uma fonte rica de minerais como Cálcio, Ferro, Potássio e Fósforo, além de possuir baixo valor calórico e alto teor de fibras (AHERNE; O'BRIEN, 2002; CARVALHO, 1988; MURILLO; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; PORUGAL, 2010). Essa hortaliça possui também diversos compostos bioativos que promovem benefícios à saúde e previnem doenças degenerativas no organismo humano. Dentre esses compostos se destacam os carotenoides e os compostos fenólicos, sendo estes últimos relacionados à atividade antioxidante da escarola (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2005; LLORACH et al., 2008; MASCHERPA et al., 2012; TIVERON et al., 2012).

Após colhida, a escarola pode apresentar diversos processos deteriorativos, durante as etapas de transporte e comercialização, dependendo das condições a que foi exposta. Entre esses sintomas, destacam-se o escurecimento na superfície das folhas, o surgimento de pontos avermelhados ou o crescimento de manchas internas, as quais podem levar ao desenvolvimento de *bitter taste*, deixando o sabor mais amargo do que o usual (BENNIK et al., 1996; VANKERSCHAUVER et al., 1996). Todos esses sintomas comprometem a qualidade pós-colheita da escarola e, conseqüentemente, sua vida útil.

2.2 Processamento mínimo

De acordo com a *International Fresh Cut Producers Association*, produtos minimamente processados são frutas ou hortaliças alteradas de sua forma original para torná-los convenientes ao preparo e ao consumo, permanecendo no estado fresco com qualidade e garantia de sanidade (OLIVEIRA et al., 2015). Surgiram a partir da necessidade do consumidor em adquirir alimentos frescos e saudáveis que estivessem prontos para o consumo

ou que precisassem de pouco preparo, sendo considerado como um dos mercados que mais cresce no setor alimentar (COZZOLINO et al., 2016; MORETTI, 2007).

A qualidade dos produtos minimamente processados (MP) pode ser definida através de propriedades físicas, componentes químicos e atributos sensoriais (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os parâmetros que tornam os produtos hortícolas apreciados pelos consumidores são a aparência, textura, sabor, odor e valor nutritivo. Para conservá-los na forma minimamente processada, deve-se fazer uso de embalagens e refrigeração adequadas, bem como promover a descontaminação microbiana (CHITARRA; CHITARRA, 1990; ROCCULI et al., 2007; GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2009).

Segundo Cenci (2011), o mercado de vegetais minimamente processados deve-se atentar a garantia da vida útil, ao controle rigoroso da sanitização, higiene, temperatura e embalagem dos produtos, bem como a conservação do sabor, aroma e valor nutritivo. Ao serem submetidos a estresses físicos tais como descascamento e corte, os produtos MP apresentam comportamento fisiológico diferente da forma inteira, apresentando menor vida útil, sendo necessário estudos sobre a fisiologia, manuseio e métodos de conservação para cada um (MORETTI, 2007).

As principais etapas do processamento mínimo envolvem: seleção, lavagem, descascamento, corte ou fatiamento, sanitização, enxágue, centrifugação, embalagem e armazenamento. A etapa de corte durante o processamento mínimo ocasiona o rompimento de organelas, modificando a permeabilidade das membranas, ativando a síntese do etileno do ferimento (“wound ethylene”) e, conseqüentemente aumentando a respiração, além de tornarem o produto cortado mais vulnerável ao ataque de microrganismos (CHITARRA; CHITARRA, 2005; MORETTI, 2007).

Outras conseqüências do processamento estão ligadas a alterações físicas e bioquímicas relacionadas a perda de qualidade, tais como redução da firmeza dos tecidos, desenvolvimento de *off-flavours*, perda de nutrientes, escurecimento enzimático e aumento do desenvolvimento microbiano (MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2011; HERNÁNDEZ et al., 2014). Para reduzir esses sintomas e prolongar a vida útil desses produtos, é necessário que eles sejam mantidos sob refrigeração durante todas as etapas, da produção até a comercialização (CENCI, 2011).

Técnicas como a atmosfera modificada e controlada são utilizadas em conjunto com baixas temperaturas para a conservação e manutenção da qualidade dos produtos MP, porém, quando estas ainda não são suficientes para manter a qualidade desses produtos dentro do período de vida útil adequada, outras técnicas também são utilizadas, como a aplicação de

antioxidantes, a irradiação, recobrimentos comestíveis, tratamentos térmicos, entre outros (KLUGE et al., 2014; HERNÁNDEZ et al., 2014). Dentre essas técnicas, a utilização de soluções antioxidantes é uma das mais eficientes e utilizadas (OMS-OLIU et al., 2010; SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2010; CEFOLA; PACE, 2015).

2.3 Refrigeração

A temperatura de armazenamento é o fator externo controlável mais importante para a conservação dos produtos MP, pois esta influencia diretamente a atividade respiratória e as reações metabólicas, controlando, portanto, a taxa de senescência do produto (JACXSENS et al., 2000). Diversos trabalhos têm mostrado que a redução na temperatura de armazenamento é responsável pela diminuição na taxa respiratória e consequente aumento na vida útil de produtos MP (BERNO et al., 2014; AYUB; SPINARDI; GIOPO, 2013; WAGHMARE; MAHAJAN; ANNAPURE, 2013; SASAKI et al., 2014).

O repolho, por exemplo, embora seja considerado um produto com baixa atividade respiratória e produção de etileno, quando processado em tiras, sua taxa de respiração pode aumentar em cerca de 300% em relação a produto intacto. Entretanto, o armazenamento em baixas temperaturas pode diminuir essa atividade, sendo que tanto o repolho minimamente processado quanto o inteiro obtiveram menor atividade respiratória quando armazenado a 5°C do que a 10°C (CANTWELL; SUSLOW, 1999; RINALDI; BENEDETTI; MORETTI, 2008).

Baixas temperaturas também podem diminuir a produção de etileno nos vegetais, pois inibe a síntese de ATP, o qual é necessário para que a conversão de metionina em S-adenosilmetionina, alterando assim, a produção de C₂H₄ (AWAD, 1993). Temperaturas entre 0 e 3°C podem aumentar a vida útil dos vegetais minimamente processados entre 5 e 18 dias, devido à redução da taxa respiratória, fazendo com que, as reações bioquímicas, oxidativas e o crescimento microbiano sejam desacelerados, diminuindo assim, as perdas na qualidade (PILON et al., 2003).

A temperatura é regular a atividade de enzimas que podem levar a deterioração dos tecidos vegetais, como as enzimas de escurecimento e as que degradam pigmentos, bem como aquelas que influenciam o valor nutricional. Diversos trabalhos com produtos minimamente processados, têm relatado que a temperatura desempenha papel fundamental na conservação dos aspectos de qualidade desses produtos, destacando-se também o efeito desta sob os compostos antioxidantes (BERNO et al., 2014; COCETTA et al., 2014; SASAKI et al., 2014; SPINARDI; FERRANTE, 2012; ZHAN et al., 2012; WATADA; ABE; YAMUCHI, 1990).

A temperatura é o principal fator envolvido na conservação do conteúdo de pigmentos em hortaliças folhosas MP, no qual sua degradação está associada a perda de cor ou escurecimento do tecido (FERRANTE et al., 2004; FERRANTE; MAGGIORE, 2007; VINA; CHAVES, 2003). Trabalhos mostram que quanto maior a temperatura de armazenamento, maior é a perda de clorofila, amarelecimento das folhas e perda de nutrientes, acarretando em menor vida útil desses produtos (GIMENA; KAZUHIDE; TOSHIYUKI, 2000; PANDRANGI; LABORDE, 2004).

Tendo em vista a importância da manutenção da temperatura para esses produtos, a cadeia de frio deve ser mantida em todas as etapas, da produção à comercialização, porém isto nem sempre é seguido. Variações de temperatura durante o transporte podem ocorrer e gerar riscos à saúde pública, considerando que pode haver o desenvolvimento de microrganismos anaeróbicos, devido as diferenças entre a respiração do produto e a taxa de permeabilidade a gases da embalagem. Durante a comercialização, a temperatura nas gôndolas dos supermercados pode variar muito, geralmente ficando entre 12 a 15°C (CENCI, 2011).

A temperatura de 0°C é a mais recomendável para o armazenamento da maioria dos produtos minimamente processados, entretanto, temperaturas entre 5-10°C, por motivos econômicos também são utilizadas (SCHLIMME, 1995; WATADA; KO; MINOTT, 1996). Por outro lado, baixas temperaturas nem sempre são indicadas para a conservação dos produtos MP, pois alguns vegetais podem apresentar sensibilidade ao frio. Trabalhos relataram o dano por frio em espinafre ‘Malabar’ MP, quando armazenado nas temperaturas de 0 e 5°C. Esse dano foi caracterizado pelo surgimento de manchas escuras e murchamento das folhas (GIMENA; KAZUHIDE; TOSHIYUKI, 2000). Alguns autores relataram que com o aumento do dano por frio, também ocorre aumento no amarelecimento, escurecimento e perda de nutrientes nos vegetais (HAARD; TIMBIE, 1973; YAMAUCHI; OGATA, 1979).

2.4 Atmosfera modificada

O uso em conjunto da atmosfera modificada e refrigeração constitui uma importante forma de conservação dos produtos MP, proporcionando maior vida útil e minimizando a deterioração durante todo o armazenamento, reduzindo ainda, a perda de água e retardando o crescimento de microrganismos (FRANCIS; O’BEIRNE, 1997; ESTURK; AYHAN; GOKKURT, 2014). A atmosfera modificada tem por objetivo a redução da concentração de oxigênio e aumento da concentração de dióxido de carbono no interior das embalagens desses

produtos, fazendo com que, a respiração e o metabolismo destes sejam reduzidos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A modificação da atmosfera pode ser realizada de forma passiva ou ativa. A atmosfera passiva é obtida pela selagem hermética da embalagem, ou através da evacuação total ou parcial, na qual a atmosfera é formada pela interação da respiração do produto e a permeabilidade da embalagem. A forma ativa de modificação é realizada quando se injeta uma mistura gasosa previamente conhecida na embalagem. Independente da forma utilizada, deve-se escolher uma embalagem com características de permeabilidade a gases apropriadas para cada hortaliça ou fruta (SARANTÓPOULOS, 2011).

Quando a respiração do vegetal condiz com a com a permeabilidade do filme utilizado, ocorre a formação da atmosfera de equilíbrio, a qual prolonga a vida útil do produto (OLIVEIRA et al., 2015). Para alcançar esse equilíbrio, deve-se observar a taxa de permeação aos gases do filme e as concentrações que serão inseridas (no caso da atmosfera ativa), pois podem ocorrer descompasso entre o consumo de O₂ e o acúmulo de CO₂ pela respiração, o que poderia provocar a respiração anaeróbica, havendo riscos de injúrias, como o surgimento de necrose, desenvolvimento de *off-flavors* e rápida perda nutricional (CHINSIRIKUL et al., 2014; HODGES; TOIVONEN, 2008).

A atmosfera modificada caracteriza-se como uma forma simples e viável para a conservação dos produtos MP, devido ao baixo custo, principalmente da atmosfera passiva (JIANG; JOYCE; TERRY, 2001). Entretanto, deve-se estudar a composição gasosa ideal para cada vegetal, considerando que eles apresentam diferentes atividades respiratórias (MORETTI; AZEVEDO, 2003). De modo geral, recomenda-se que uma concentração entre 1 e 3% de oxigênio dentro da embalagem seja necessária para evitar a respiração anaeróbica (SODE; KÜHN, 1998).

No Brasil, os materiais mais utilizados para a embalagem dos produtos MP variam de acordo com o tipo de produto. Para frutas, geralmente são utilizadas embalagens rígidas de poli tereftalato de etileno (PET), polipropileno (PP) com tampas de encaixe ou sob bandejas de poliestireno expandido recobertos com filme esticável de policloreto de vinila (PVC). Já vegetais como a batata e a mandioca são, comumente comercializadas em embalagens a vácuo, à base de poliamida (PA) ou polietileno (PE). Para as hortaliças folhosas, são utilizadas embalagens flexíveis à base de polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno bi-orientado (BOPP), polipropileno (PP) e o PVC (SARANTÓPOULOS, 2011).

Os materiais de PEBD apresentam pouca rigidez e possuem certo grau de transparência, considerado não tão atrativo comercialmente, sendo mais utilizado no setor

institucional. Os filmes de PP são menos permeáveis e mais rígidos que os de PEBD, sendo também mais transparentes e brilhosos que este último, com apresentação mediana para o varejo. Os filmes de BOPP possuem dupla camada, sendo o mais caro do que anteriores, considerados muito atrativos, por apresentarem brilho e ótima transparência, além de alta rigidez (SARANTÓPOULOS, 2011).

O filme de PVC apresenta alta permeabilidade aos gases da respiração, modificando a atmosfera apenas para os produtos que possuem alta taxa respiratória, tais como a couve, brócolis, cogumelo e outros (SARANTÓPOULOS, 2011). A rúcula é sensível a concentrações muito altas de CO₂ e/ou baixas de O₂, sendo o filme de PEBD mais recomendável para essa hortaliça. Para a alface e a acelga, por respirarem menos, os filmes de BOPP com permeabilidade intermediária são os mais indicados (CENCI, 2011). Alguns trabalhos mostram que para repolho e brócolis MP, a embalagem de PP é a mais apropriada (PADULA, 2006; RINALDI et al., 2009; SILVA, 2000).

2.4 Tratamentos antioxidantes

O uso de antioxidantes consiste na imersão do produto em soluções contendo ácidos orgânicos ou sais minerais de forma isolada ou em combinações (HERNÁNDEZ et al., 2014). Esses compostos são capazes de reduzir a atividade respiratória, a perda de nutrientes e pigmentos e inibir enzimas que causam o escurecimento, sendo que alguns ainda podem apresentar efeito antimicrobiano (IHL et al., 2003; AKBAS; OLMEZ, 2007; SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2010).

Dentre os produtos mais pesquisados e utilizados, destacam-se os ácidos orgânicos, pois são de fácil aplicação, baixo custo e apresentam efetividade do tratamento (CENCI, 2011; ARAÚJO, 2010). Os ácidos orgânicos mais utilizados são os ácidos ascórbico, cítrico, salicílico, oxálico e o etilenodiamino-tetracético (EDTA) (SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2010; KLUGE et al., 2014; CEFOLA; PACE, 2015). Esses ácidos são relativamente fracos, reconhecidos como seguros para a aplicação e consumo em alimentos, sendo amplamente utilizados em produtos MP (SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN 2010; SAPERS, 1993). Estes agentes são considerados principalmente como antiescurecedores, porém, também possuem ação antioxidante, sendo que o efeito pode variar de acordo com a concentração de aplicação e devido os diferentes modos de ação de cada um (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2008; SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN 2010).

O ácido ascórbico (AA) é um dos principais agentes utilizados na prevenção do escurecimento enzimático e de outras reações oxidativas (WILEY, 1994; SILVA; ROSA; VILAS BOAS, 2009). Ele é um agente acidulante e redutor, podendo agir de duas formas: pela redução do pH a níveis que impeçam a atividade enzimática ou reduzindo quinonas, compostos gerados pela a atividade das enzimas de escurecimento a suas formas anteriores de difenois, impedindo assim, que ocorra a o escurecimento do tecido (SAPERS; MILLER, 1998). Além de seus efeitos antiescurecimento, este ácido pode aumentar o valor nutricional pelo incremento no teor de vitamina C e, atuar na proteção e regeneração de compostos antioxidantes (PINELI, 2004).

Os efeitos benéficos do uso do AA já foram relatados em diversos produtos MP. Entre diversos antioxidantes estudados em pimentão amarelo, o AA foi o melhor para a redução da taxa respiratória e conservação da qualidade (KLUGE et al., 2014). Em kiwi, couve chinesa e rabanete, verificou-se o incremento e melhor conservação do conteúdo de vitamina C (CARVALHO; LIMA, 2002; EVANGELISTA et al., 2009; DEL AGUILA et al., 2008). Em abacaxi, o AA reduziu a degradação de açúcares e de compostos fenólicos (GONZÁLEZ-AGUILAR et al., 2005), já em alface, observou-se efeito protetor contra o escurecimento enzimático e aumento na capacidade antioxidante dessa hortaliça (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2008).

O ácido cítrico (AC) é o ácido orgânico mais abundante encontrado em vegetais, possui ação acidulante e quelante, possuindo dupla ação inibitória contra a polifenoloxidase (PPO), enzima responsável pelo escurecimento. O AC além de reduzir o pH do meio, pode complexar o cobre no centro ativo da PPO. Também pode agir sinergicamente com outros ácidos, como o ascórbico e eritórbico, capaz de preservar o teor de vitamina C nos vegetais (COSTA, 2010; IBRAHIM et al., 2004; PINELLI, 2004). Os ácidos ascórbico e cítrico também possuem ação antimicrobiana, atribuída a redução do pH externo dos tecidos para valores que não permitam o seu desenvolvimento dos microrganismos (AKBAS; OLMEZ, 2007; ANSORENA; MOREIRA; ROURA, 2014; IHL et al., 2003).

A aplicação do AC diminui a taxa respiratória dos produtos MP, o que mantém a qualidade e aumenta a sua vida útil. Ele pode atuar como composto inibitório da formação de tecidos esbranquiçados na superfície dos cortes, possuindo também ação protetora sobre os pigmentos, como já observado em beterraba MP (LANA, 2000; VITTI et al., 2003). A aplicação de AC preservou a cor e a qualidade sensorial em repolho MP e prolongou a vida útil em alface (MAISTRO, 2001; MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2011). Observou-se

aumento no teor de sólidos solúveis em rabanetes MP com a aplicação de AC (DEL AGUILA et al., 2008).

O ácido oxálico (AO) também possui ação acidulante e quelante, sendo um composto presente em diversos vegetais e, apresentando destaque importante contra a oxidação e preservação dos vegetais (KAYASHIMA; KATAYAMA 2002; YORUK et al., 2004). Possui grande afinidade para a formação de complexos de metais com íons de cobre, sendo um ótimo inibidor da PPO. Também possui ação protetora contra a degradação do AA e auxilia na manutenção da integridade das membranas celulares de vegetais folhosos (AKBIYIK et al., 2012; CEFOLA; PACE, 2015).

Verificou-se que AO é um eficiente agente antiescurecedor em alface e endívia (CASTANER; GIL; ARTES, 1997; ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2009). Em maçã MP, o AO mostrou-se mais efetivo contra o escurecimento do que a aplicação de AC e AA, sendo eficaz também contra o escurecimento de banana MP (SON; MOON; LEE, 2000; YORUK et al., 2004). Em espinafre bebê e rúcula MP, o AO proporcionou menor degradação da clorofila e retardou o crescimento microbiano (CEFOLA; PACE, 2015).

O EDTA é um agente quelante que possui ação antiescurecimento através de sua função quelante com íons de cobre e ferro, inibindo a atividade da PPO (SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2010; SAPERS, 1993). Esse ácido pode agir sinergicamente com o AA na prevenção do escurecimento enzimático ou impedindo a sua degradação, por possuir ação antioxidante catalítica do cobre do AA. O EDTA é considerado como estabilizante de vitaminas como a A, D, E e K e também de pigmentos como os carotenoides (MADHAVI; DESHPANDE; SALUNKHE, 1995; SAPERS, 1993).

Em banana maçã MP, a aplicação de EDTA foi a mais eficiente para diminuir a atividade da PPO (MELO; VILAS BOAS, 2006). Em couve chinesa MP, o EDTA promoveu maior conservação do teor de ácido ascórbico, menor perda de massa e menor escurecimento (EVANGELISTA et al., 2009). Quando utilizado em quiabo MP, o EDTA apresentou redução significativa no escurecimento das rodela (JESUS et al., 2008).

Referências

AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, London, v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.

AKBAS, M. Y.; OLMEZ, H., Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Weinheim, v. 87, n. 14, p. 2609-2616, 2007.

AKBIYIK, T.; SÖNMEZOG˘ LU, I.; GÜÇLÜ, K.; TOR, I.; APAK, R. Protection of ascorbic acid from copper (II) – catalyzed oxidative degradation in the presence of fruit acids: citric, oxalic, tartaric, malic, malonic, and fumaric acids. **International Journal of Food Properties**, Muscat, v. 15, p. 398–341, 2012.

ALTUNKAYA, A.; GÖKMEN, V. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). **Food Chemistry**, New York, v. 107, n. 3, p. 1173-1179, 2008.

_____. Effect of various anti-browning agents on phenolic compounds profile of fresh lettuce (*L. sativa*). **Food Chemistry**, New York, v. 117, n. 1, p. 122-126, 2009.

ANSORENA, R.M.; MOREIRA, R.M.; ROURA, S.I. Combined effect of ultrasound, mild heat shock and citric acid to retain greenness, nutritional and microbiological quality of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L.): an optimization study, **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 1-13, 2014.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2010. 596 p.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114 p.

AYUB, R.A.; SPINARDI, B.; GIOPPPO, M. Storage and fresh cut radish. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, p. 241–245, 2013.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoids of endive and New Zealand spinach as affected by maturity, season and minimal processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, Paris, v. 18, n.8, p. 845-855, 2005.

BALBACH, A.; BOARIM, D.S.F. **As hortaliças na medicina natural**. 2. ed. São Paulo: Missionária, 1992. 291 p.

BENNIK, M.H.J.; PEPPELENBOS, H.W.; NGUYENTHE, C.; CARLIN, F.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M. Microbiology of minimally processed, modified-atmosphere packaged chicory endive. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 209-221, 1996.

BERNO, N.D.; TEZOTTO-ULIANA, J.V.; DOS SANTOS DIAS, C.T.; KLUGE, R.A. Storage temperature and type of cut affect the biochemical and physiological characteristics of fresh-cut purple onions. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 93, n. 1, p. 91-96. 2014.

CAMARGO FILHO, W.P.; OLIVEIRA, A.C. **Perfil da olericultura no Brasil e em São Paulo**. Disponível em:
<http://www.cati.sp.gov.br/projetolupa/estudos_lupa/Perfil%20da%20Olericultura%20SP.pdf>. Acesso em: 16 jun. 2016.

CANTWELL, M.; SUSLOW, T. Fresh-cut fruits and vegetables: aspects of physiology, preparation and handling that affect quality. In: ANNUAL WORKSHOP FRESH-CUT PRODUCTS: MAINTAINING QUALITY AND SAFETY, 5., 1999, Davis. **Abstracts book...** Davis: University of California, 1999. Section 4b, p. 1-22.

CARVALHO, A.V.; LIMA, L.C.O. Qualidade de kiwis minimamente processados e submetidos a tratamento com ácido ascórbico, ácido cítrico e cloreto de cálcio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 679-685, 2002.

CARVALHO, B.A. **Conheça melhor as hortaliças**. Campo Grande: EMPAER, 1988. 71 p. (Documentos, 17).

CARVALHO, C. Verdes mares. In: BELING, R.R. **Anuário brasileiro de hortaliças**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2013. p. 88.

CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M. **Análises químicas: manual técnico**. Campinas: ITAL, 1990. 121 p.

CASTANER, M.; GIL, M.I.; ARTES, F. Organic acids as browning inhibitors on harvested "Baby" lettuce and endive. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, Dresden, v. 205, p. 375–379, 1997.

CEFOLA, M.; PACE, B. Application of oxalic acid to preserve the overall quality of rocket and baby spinach leaves during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, Bari, v. 39, n. 6, p. 2523-2532, 2015.

CENCI, S.A. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. 144 p.

CERMEÑO, Z.S. **Viente cultivos de hortalizas en invernadero**. Sevilla: RALI, 1996. 638 p.

CHINSIRIKUL, W.; KLINTHAM, P.; KERDDONFAG, N.; WINOTAPUN, C.; HARARAK, B.; KUMSANG, P.; CHONHENHOB, V. Porous ultrahigh gas-permeable polypropylene film and application in controlling in-pack atmosphere for asparagus. **Packaging Technology and Science**, Weinheim, v. 27, n.4, p. 313-325, 2014.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL; FAEP, 1990. 320 p.

_____. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

COCETTA, G.; BALDASSARRE, V.; SPINARDI, A.; FERRANTE, A. Effect of cutting on ascorbic acid oxidation and recycling in fresh-cut baby spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 88, p. 8-16, 2014.

COSTA, A.C. **Estudo da conservação do pêssgo (*Prunus persica* L.) minimamente processado**. 2010. 77 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

COZZOLINO, R.; MARTIGNETTI, A.; PELLICANO, M. P.; STOCCHERO, M.; CEFOLA, M.; PACE, B.; DE GIULIO, B. Characterization of volatile profile and sensory analysis of fresh-cut "Radicchio di Chioggia" stored in air or modified atmosphere. **Food Chemistry**, New York, v. 192, n. 1, p. 603-611, 2016.

DEL AGUILA, J.S.; SASAKI, F.F.; HEIFFIG, L.S.; ORTEGA, E.M.M.; TREVISAN, M.J.; KLUGE, R.A. Antioxidants in fresh cut radishes cold stored. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 51, n. 6, p. 1217-1223, 2008.

ESTURK, O.; AYHAN, Z.; GOKKURT, T. Production and application of active packaging film with ethylene adsorber to increase the shelf life of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). **Packaging Technology and Science**, Weinheim, v. 27, n. 3, p. 179-191, 2014.

EVANGELISTA, R.M.; VIEITES, R.L.; CASTRO, P.S.; RALL, V.L. Qualidade de couve-chinesa minimamente processada e tratada com diferentes produtos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 324-332, 2009.

FELTRIM, A.L.; CECÍLIO FILHO, A.B.; REZENDE, B.L.A.; BARBOSA, J.C. Produção de chicória em função do período de cobertura com tecido de polipropileno. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 249-254, 2006.

_____. Crescimento e acúmulo de macronutrientes em chicória coberta e não coberta com polipropileno. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 50-55, 2008.

FERRANTE, A.; MAGGIORE, T. Chlorophyll a fluorescence measurements to evaluate storage time and temperature of Valeria-nella leafy vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 45, p. 73-80, 2007.

FERRANTE, A.; INCROCCI, L.; MAGGINI, R.; SERRA, G.; TOGNONI, F. Colour changes of fresh-cut leafy vegetables during storage. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, Helsinki, v. 2, p. 40-44, 2004.

FILGUEIRA, F.A.R. Asteráceas. In: _____. **Manual de olericultura**. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. p. 289-295.

_____. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003. 412 p.

_____. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2007. 421 p.

FRANCIS, G.A.; O'BERINE, D. Effects of gas atmosphere, antimicrobial dip and temperature on the fate of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* on minimally processed lettuce. **International Journal of Food Science and Technology**, Basel, v. 32, p. 141-154, 1997.

FRANCISCO NETO, J. **Manual de horticultura ecológica: guia de auto-suficiência em pequenos espaços**. São Paulo: Nobel, 2002. 141 p.

GIMENA, E.F.; KAZUHIDE, K.; TOSHIYUKI, M. Effects of storage temperature on the keeping quality of malabar spinach (*Basella alba* L.). **Food Preservation Science**, Tokyo, v. 26, n. 4, p. 211-217, 2000.

GÓMEZ-LÓPEZ, V.M.; RAJKOVIC, A.; RAGAERT, P.; SMIGICN, N.; DEVLIEGHERE, F. Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 17-26, 2009.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A.; RUIZ-CRUZ, S.; SOTO-VALDEZ, H.; VÁZQUEZ-ORTIZ, F.; PACHECO-AGUILAR, R.; WANG, C.Y. Biochemical changes of fresh-cut pineapple slices treated with antibrowning agents. **International Journal of Food Science & Technology**, Basel, v. 40, p. 377–383, 2005.

HAARD, N.F.; TIMBIE, D. Chilling injury in green banana fruit, changes in peroxidase isozymes in soluble and particulate pools. **Journal of Food Science**, Malden, v. 38, p. 642-648, 1973.

HERNÁNDEZ, A.E.; MÁRQUEZ CARDOZO, C.J.; RESTREPO FLORES, C.E.; CANO SALAZAR, J.A.; PATIÑO GÓMEZ, J.H. Aplicación de tratamiento térmico, recubrimiento comestible y baño químico como tratamientos poscosecha para la conservación de hortalizas mínimamente procesadas. **Acta Agronómica**, Colombia, v. 63, n. 1, p. 1-10, 2014.

HODGES, D.M.; TOIVONEN, P.M.A. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 155-162, 2008.

IBRAHIM, R.; OSMAN, A.; SAARI, N.; RAHMAN, R.A. Effects of anti-browning treatments on the storage quality of minimally processed shredded cabbage. **Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 2, n. 2, p. 54-58, 2004.

IHL, M.; ARAVENA, L.; SCHEUERMANN, E.; UQUICHE, E.; BIFANI, V. Effect of immersion solutions on shelf-life of minimally processed lettuce, **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology**, Georgia, v. 36, n. 6, p. 591-599, 2003.

JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; DE RUDDER, T.; DEBEVERE, J. Designing equilibrium modified atmosphere packages for fresh-cut vegetables subjected to changes in temperature. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology**, Georgia, v. 33, n. 1, p. 178–187, 2000.

JESUS, M.M.S.; CARNELOSSI, M.A.G.; SANTOS, S.F.; NARAIN, N.; CASTRO, A.A. Inibição do escurecimento enzimático de quiabo minimamente processado. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 4, p. 524-530, 2008.

JIANG, Y.; JOYCE, D.C.; TERRY, L.A. Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 23, n. 3, p. 227–232, 2001.

JORNAL ENTREPOSTO. Amargo da escarola é indício de benefícios para combater doenças graves. **Jornal Entrepósito**, São Paulo, 01 jun. 2016. Disponível em: <[http://www.jornalentreposto.com.br/mercado/24-verduras/2030-amargo-da-escarola-e-indicio-de-beneficios-para-combater-doencas-graves](http://www.jornalentrepосто.com.br/mercado/24-verduras/2030-amargo-da-escarola-e-indicio-de-beneficios-para-combater-doencas-graves)>. Acesso em: 16 jun. 2016.

KAYASHIMA, T.; KATAYAMA, T. Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems. **Biochimica and Biophysica Acta**, Cambridge, v. 1573, p. 1–3, 2002.

KLUGE, R.A.; GEERDINK, G.M.; TEZOTTO-ULIANA, J.V.; DANELON GUASSI, S.A.; ZORZETO, T.Q.; CERQUEIRA SASAKI, F.F.; MELLO, S.D.C. Qualidade de pimentões amarelos minimamente processados tratados com antioxidantes, **Semina-Ciencias Agrarias**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 801-811, 2014.

KOUDELA, M.; PETŘÍKOVÁ, K. Quality testing of leaf lettuce, endive, and sweet assortment. **Rocznik Akademii Rolniczej Poznań, Rocznik, CCCXXIII Ogrodnictwo 31**, Rocznik, p. 313-317, 2000.

LANA, M.M. Aspectos da fisiologia de cenoura minimamente processada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 154-158, 2000.

LLORACH, R.; MARTINEZ-SANCHEZ, A.; TOMAS-BARBERAN, F.A.; GIL, M.I.; FERRERES, F. Characterization of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. **Food Chemistry**, New York, v. 108, n. 3, p. 1028-1038, 2008.

MADHAVI, D.L.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. **Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives**. New York? CRC Press, 1995. 217 p.

MAISTRO, L.C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, p. 219-224, 2001.

MANOLOPOULOU, E.; VARZAKAS, T. Effect of storage conditions on the sensory quality, colour and texture of fresh-cut minimally processed cabbage with the addition of ascorbic acid, citric acid and calcium chloride. **Food and Nutrition Sciences**, Bologna, v. 2, n. 1, p. 956-963, 2011.

MASCHERPA, D., CARAZZONE, C., MARRUBINI, G., GAZZANI, G.; PAPETTI, A. Identification of phenolic constituents in *Cichorium endivia* Var. *crispum* and Var. *latifolium* salads by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 60, n. 49, p. 12142-12150, 2012.

MELO, A.A.M.; VILAS BOAS, E.V.B. Inibição do escurecimento enzimático de banana maçã minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 110-115, 2006.

MORETTI, C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças; Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. 2007. 531 p.

MORETTI, C.L.; AZEVEDO, J.H. **Iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial: hortaliças minimamente processadas**. Brasília: Embrapa Hortaliças; SEBRAE; Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 133 p.

MURILLO, E.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.; PORUGAL, F. Screening of vegetables and fruits from Panama for rich sources of lutein and zeaxanthin. **Food Chemistry**, New York, v. 122, p. 167-172, 2010.

OLIVEIRA, M.; ABADIAS, M.; USALL, J.; TORRES, R.; TEIXIDO, N.; VINAS, I. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 46, n. 1, p. 13-26, 2015.

OMS-OLIU, G.; ROJAS-GRAUE, M.A.; GONZALEZ, L.A.; VARELA, P.; SOLIVA-FORTUNY, R.; HERNANDO, M.I.H.; MUNUERA, I.P. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: s review, **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 57, n. 3, p. 139-148, 2010.

PADULA, M.L. **Influência de diferentes tipos de embalagens em brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *Itálica*) orgânicos minimamente processados**. 2006. 64 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

PANDRANGI, S.; LABORDE, L.F. Retention of folate, carotenoids, and other quality characteristics in commercially packaged fresh spinach. **Journal of Food Science**, Malden, v. 69, n. 9, p. 702-707, 2004.

PETERS, A.M.; VAN AMERONGEN, A. Relationship between levels of sesquiterpene lactones in chicory and sensory evaluation. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Wageningen, v. 123, n. 1, p. 326-329, 1998.

PILON, L. **Estabelecimento da vida útil de hortaliças minimamente processadas sob atmosfera modificada e refrigeração**. 2003. 111 p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

PINELI, L.L.O. Processamento mínimo de batata. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 1., 2004, Viçosa. **Resumos...** Viçosa: UFV, 2004. p. 71-81.

RINALDI, M.M.; BENEDETTI, B.C.; MORETTI, C.L. Atividade respiratória, produção de etileno e vida útil de repolho (*Brassica oleracea*, var. *capitata*) minimamente processado em atmosfera controlada. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 579-589, 2008.

RINALDI, M.M.; BENEDETTI, B.C.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.; MORETTI, C.L. Estabilidade de repolho minimamente processado sob diferentes sistemas de embalagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 310-315, 2009.

ROCCULI, P.; GALINDO, F.G.; MENDONZA, F.; WADSÖ, L.; ROMANI, S.; DALLA ROSA, M.; SJÖHOLM, I. Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 151-157, 2007.

RYDER, E. **Lettuce, endive and chicory**. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 208 p.

SAPERS, G.M. Browning of foods: control by sulfates, antioxidants, and other means. **Food Technology**, Chicago, v. 47, p. 75-85, 1993.

SAPERS, G.M.; MILLER, R.L. Browning inhibition in fresh-cut pears. **Journal of Food Science**, Malden, v. 63, n. 2, p. 342-346, 1998.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L. Embalagem. In: CENCI, S.A. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagens**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. cap. 4, p. 59-70.

SASAKI, F.F.C.; DEL AGUILA, J.S.; GALLO, C.R.; JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A. Physiological, qualitative and microbiological changes of minimally processed squash stored at different temperatures. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, México, v. 15, n.2, p. 210-220, 2014.

SCHLIMME, D.V. Marketing lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v. 30, p. 15-17, 1995.

SILVA, E.O. **Fisiologia pós-colheita de repolho (*Brassica oleracea* var. capitata) minimamente processado**. 2000. 79 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

SILVA, M.V.; ROSA, C.I.L.F.; VILAS BOAS, E.V.B. Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 27, n. 1, p. 83-96, 2009.

SODE, F.; KÜHN, B.F. Respiration in MA-packed, cut carrots. **Journal of Food Engineering**, Ayrslay, v. 37, p. 223-232, 1998.

SON, S.M.; MOON, K.D.; LEE, C.Y. Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 48, n. 6, p. 2071-2074, 2000.

SPINARDI, A.; FERRANTE, A. Effect of storage temperature on quality changes of minimally processed baby lettuce. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 10, n. 1, p. 38-42, 2012.

SUTTIRAK, W.; MANURAKCHINAKORN, S. Potential application of ascorbic acid, citric acid and oxalic acid for browning inhibition in fresh-cut fruits and vegetables. **Walailak Journal of Science and Technology**, Walailak, v. 7, n. 1, p. 5-14, 2010.

TIVERON, A.P.; MELO, P.S.; BERGAMASCHI, K.B.; VIEIRA, T.M.F.S.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; ALENCAR, S.M. Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 13, n. 7, p. 8943-8957. 2012.

VANKERSCHAUER, K.; WILLOCX, F.; SMOUT, C.; HENDRICKX, M.; TOBBACK, P. Modeling and prediction of visual shelf life of minimally processed endive. **Journal of Food Science**, Malden, v. 61, n. 1, p. 1094-1098, 1996.

VINA, S.Z.; CHAVES, A.R. Texture changes in fresh cut celery during refrigerated storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Weinheim, v. 83, p. 1308-1314, 2003.

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

WAGHMARE, R.B.; MAHAJAN, P.V.; ANNAPURE, U.S. Modelling the effect of time and temperature on respiration rate of selected fresh-cut produce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 80, p. 25–30, 2013.

WATADA, A.E.; ABE, K.; YAMUCHI, N. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v. 44, p. 116-122, 1990.

WATADA, A.E.; KO, N.P.; MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products, **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 115-125, 1996.

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

YAMAUCHI, N.; OGATA, K. Physiological and chemical studies on ascorbic acid of fruits and vegetables. V. effect of ascorbic acid on the metabolism of phenolic compounds in the seed of sweet pepper fruit associated with the incidence of chilling injury (part ii). **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto, v. 47, n. 4, p. 537-545, 1979.

YORUK, R.; YORUK, S.; BALABAN, M.O.; MARSHALL, M.R. Machine vision analysis of antibrowning potency for oxalic acid: a comparative investigation on banana and apple. **Journal of Food Science**, Malden, v. 69, p. 281–289, 2004.

ZHAN, L.; HU, J.; LI, Y.; PANG, L. Combination of light exposure and low temperature in preserving quality and extending shelf-life of fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* L.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 72, p. 76-81. 2012.

3 QUALIDADE DA ESCAROLA MINIMAMENTE PROCESSADA ARMAZENADA EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Resumo

A escarola possui propriedades nutraceuticas e antioxidantes e com potencial para o mercado de vegetais minimamente processados. Os produtos minimamente processados precisam ser mantidos sob refrigeração para manter sua vida útil. Esse trabalho objetivou avaliar os efeitos do armazenamento refrigerado em diferentes temperaturas sobre a qualidade da escarola minimamente processada. As folhas de escarola foram processadas e armazenadas nas temperaturas de 0, 5, 10 e 15°C, e 90-95% UR durante 20 dias. As variáveis analisadas foram: cor (L, C e °h), índice de escurecimento, produção de etileno, taxa respiratória, perda de massa, teor de ácido ascórbico, clorofila, carotenoides e compostos fenólicos totais. Verificou-se que a conservação da escarola minimamente processada está relacionada diretamente com a temperatura de armazenamento. As amostras mantidas a 5, 10 e 15°C foram descartadas nos 16º, 8º e 6º dia de armazenamento, respectivamente, por terem ultrapassado o limite de escurecimento nas folhas. As amostras mantidas a 0°C mantiveram a qualidade visual até fim do armazenamento. Essa temperatura de refrigeração proporcionou a maior redução da taxa respiratória e da perda de massa, bem como foi a que melhor conservou os teores de ácido ascórbico e dos pigmentos dessa hortaliça. A temperatura de 0°C é a temperatura mais recomendada para o armazenamento desse produto por um período de 20 dias.

Palavras-chave: *Cichorium endivia* var. *latifolia* L.; Clorofila; Compostos fenólicos; Refrigeração; Taxa respiratória

Abstract

Escarole has nutraceutical and antioxidant properties and potential for the fresh cut products market. Fresh cut products need to be kept under refrigeration to maintain their shelf life. This work aimed to evaluate the effects of the cold storage at different temperatures on the quality of fresh cut escarole. The escarole leaves were processed and stored at temperatures of 0, 5, 10 and 15° C and 90-95% RH during 20 days. The variables analyzed were color (L, C and °h), browning index, ethylene production, respiratory rate, weight loss, ascorbic acid content, total chlorophyll, carotenoids and phenolics content. It was found that the conservation of fresh cut escarole is related directly with the storage temperature. The samples are kept at 5, 10 and 15° C were discarded in the 16th, 8th and 6th day of storage, respectively, for having exceeded the limit of browning on leaves. The samples are kept at 0° C maintained the visual quality until the end of the storage. This temperature provided the largest reduction in the respiratory rate and the weight loss as well as was the best preserved contents of ascorbic acid and pigments of this vegetable. Hence, the temperature of 0°C is the most recommended temperature for storing this product for up to 20 days.

Keywords: *Cichorium endivia* var. *latifolia* L.; Chlorophyll; Phenolic compounds; Cold storage; Respiratory rate

3.1 Introdução

A escarola (*Cichorium endivia* var. *latifolia* L.) está entre as hortaliças folhosas mais consumidas e valorizadas. Pertencente à família Asteraceae, a escarola é geralmente comparada à alface, entretanto, possui folhas mais fibrosas e sabor mais. A escarola apresenta diversas substâncias com propriedades nutraceuticas (BALBACH; BOARIM, 1992), dentre as quais se destacam as vitaminas A, B e C, minerais, como cálcio e ferro, compostos fenólicos e carotenoides, que possuem ação antioxidante (CARVALHO, 1988; TIVERON et al., 2012).

Devido à falta de tempo para o preparo de refeições na vida moderna e a demanda por alimentos saudáveis, a escarola apresenta forte potencial para o mercado de produtos minimamente processados, considerado um dos segmentos que mais cresce no setor alimentar (COZZOLINO et al., 2016). Estes produtos são frutos ou vegetais submetidos a uma combinação de procedimentos envolvendo seleção, lavagem, corte e/ou descasque, embalagem e outros, disponibilizando um produto ainda fresco, com alto valor nutritivo, sabor e conveniência (OLIVEIRA et al., 2015).

As etapas de descascamento e corte durante o processamento mínimo fazem com que as enzimas, antes compartimentalizadas, entrem em contato com os seus substratos, resultando em modificações fisiológicas, aumentando assim, a taxa respiratória e a produção de etileno e provocando alterações indesejáveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005; MORETTI, 2007). Portanto, o processamento pode diminuir a vida útil do produto, levando também a perdas na qualidade visual e nutricional, e propiciar o crescimento microbiano (HERNÁNDEZ et al., 2014).

Os atributos de qualidade dos produtos minimamente processados estão relacionados aos aspectos visuais, como a cor e aparência; textura, odor, sabor e o valor nutricional, os quais são afetados durante o armazenamento. Para manter esses parâmetros durante a vida útil, faz-se necessário o uso refrigeração e embalagens adequadas (MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2011; ROCCULI et al., 2007). A temperatura influencia diretamente as reações metabólicas e taxa respiratória, sendo considerada fator decisivo na senescência do produto (JACXSENS et al., 2000).

À medida que a temperatura diminui, as reações bioquímicas e oxidativas são reduzidas, bem como o crescimento microbiano, diminuindo assim, as perdas na qualidade (PILON et al., 2003). Em diversos trabalhos com produtos minimamente processados tem sido relatado que a temperatura desempenha papel fundamental para estender a vida útil e conservar os aspectos de qualidade desses produtos, principalmente os referentes à aparência

e a qualidade nutricional, representada pelos compostos antioxidantes (BERNO et al., 2014; COCETTA et al., 2014; SASAKI et al., 2014; SPINARDI; FERRANTE, 2012; ZHAN et al., 2012).

Devido à relevância da temperatura para esses produtos, é de extrema importância que a cadeia de frio seja mantida durante as todas as etapas do processamento, da produção até a comercialização. Porém, sabe-se que esta cadeia não é totalmente estabelecida em países subdesenvolvidos, principalmente nos supermercados, que armazenam os produtos minimamente processados em gôndolas que podem apresentar variações na temperatura entre 10°C e 12°C. Isso pode comprometer não só a vida útil do produto, como também acelerar o desenvolvimento microbiano (BERNO et al., 2014; CENCI, 2011).

A temperatura de 0°C é a mais recomendável para o armazenamento da maioria dos produtos minimamente processados, entretanto, temperaturas entre 5-10°C também são utilizadas em alguns casos (SCHLIMME, 1995; WATADA; KO; MINOTT, 1996). A temperatura considera ótima para a armazenagem de folhosas minimamente processadas é de 4°C (JACXSENS; DEVLIEGHERE; DEBEVERE, 2002). Porém, algumas folhosas podem apresentar dano pelo frio, quando mantidas em temperaturas abaixo de 12°C, como relatado em certas cultivares de espinafre, armazenadas a 0 e 5°C (GIMENA; KAZUHIDE; TOSHIYUKI, 2000).

A literatura é escassa em relação a trabalhos que mostrem a influência de diferentes temperaturas na qualidade da escarola minimamente processada durante o armazenamento. Da mesma forma, não há ainda conhecimento disponível dos efeitos da refrigeração sobre os aspectos fisiológicos, bioquímicos e de qualidade desse produto, os quais podem definir a sua vida útil.

3.2 Objetivo

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do armazenamento refrigerado em diferentes temperaturas sobre os aspectos visuais, fisiológicos e nutricionais da escarola minimamente processada.

3.3 Material e Métodos

3.3.1 Obtenção da matéria-prima

Escarolas cultivar Amazonas Gigante foram obtidas de produtor convencional localizado em Tanquinho, zona rural de Piracicaba, São Paulo, Brasil (22°34'00" de latitude Sul, 47°36'16" de longitude Oeste, e altitude de 609 m). As cabeças foram colhidas 65 dias após a semeadura, durante a safra de inverno, no mês de junho de 2015. Foram transportadas para laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita da Universidade de São Paulo, ESALQ – Piracicaba, com o tempo de trajeto do transporte inferior a uma hora. As escarolas foram armazenadas em câmara fria a 15°C e 90-95% UR por um dia, para retirada do calor de campo, sendo processadas no dia seguinte.

3.3.2 Instalação do experimento

As escarolas foram uniformizadas em relação à cor, tamanho e ausência de danos mecânicos e causados por pragas. As cabeças selecionadas tiveram a base cortada para a separação das folhas, as quais passaram por nova seleção. As folhas foram lavadas em água corrente para a retirada de sujidades. As folhas lavadas foram transferidas para câmara fria a 15°C, para a realização do processamento.

Todo o ambiente bem como os materiais utilizados no processamento, foram previamente higienizados e desinfetados. As folhas foram sanitizadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio (200 mg L⁻¹) a 5°C durante 10 minutos, conforme recomendações do fabricante. Após a sanitização, as folhas inteiras, incluindo as mais tenras, foram cortadas manualmente em tiras com largura aproximada de 3 cm com o auxílio de facas de aço inoxidável bem afiadas. As tiras foram novamente sanitizadas por 5 minutos e centrifugadas por 1,5 minutos em centrífuga doméstica (Arno, São Paulo, SP, Brasil) com velocidade angular média de 760 x g para a retirada do excesso de água.

Em seguida, porções de 150 g das folhas foram embaladas em filme plástico de PVC 14 µm sobre bandejas de poliestireno expandido (21 x 14,5 x 1,5 cm), as quais foram termoseladas na parte inferior das bandejas. Após, as bandejas foram distribuídas em quatro câmaras frias com as temperaturas de 0, 5, 10 e 15°C e 90-95% UR. As análises foram realizadas no dia 0, logo após 1 hora do processamento e a cada 2 dias, até o 20º dia de armazenamento.

Em seguida, porções de 150 g das folhas foram embaladas em filme plástico de PVC 14 μm sobre bandejas de poliestireno expandido (21 x 14,5 x 1,5 cm) as quais foram termoseladas no fundo das bandejas. Após a elaboração das amostras, elas foram distribuídas em 4 câmaras frias com as temperaturas de 0, 5, 10 e 15°C e 90-95% UR. As análises foram realizadas no dia 0, logo após o processamento e depois seguindo intervalos de 2 dias até o 20º dia do experimento.

3.3.3 Análises realizadas

3.3.3.1 Taxa respiratória e produção de etileno

Aproximadamente 30g de escarola minimamente processada foram acondicionadas em recipientes de 600 mL, previamente expostos às condições de temperatura e umidade de suas respectivas câmaras. Os frascos foram fechados hermeticamente, permanecendo nesse estado por 1 hora. Em cada tampa foi colocada um septo de silicone através do qual foram coletados 0,5 mL de amostra do gás interior, por meio de seringa de 1 mL. Cada amostra coletada foi injetada em cromatógrafo a gás da marca Thermo Electron Corporation, modelo Trace GC Ultra, equipado com dois detectores de ionização de chama (FID) regulados para 250°C, dois injetores regulados para 100°C, duas colunas Porapak N (coluna CO₂ – 4 m e fluxo de 25 mL min⁻¹; coluna C₂H₄ – 1,8 m e fluxo de 30 mL min⁻¹) reguladas para 100°C e um metanador regulado para 350°C. A taxa respiratória e a produção de etileno foram calculadas com base nos resultados obtidos das determinações cromatográficas, massa das escarolas contida no interior do frasco, volume do frasco e tempo que os frascos permaneceram fechados. A produção de etileno foi expressa em $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e a taxa respiratória, quantificada pela produção de CO₂, expressa em mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Para o dia 0, a taxa respiratória e a produção de etileno foram realizadas depois de 1 hora do processamento.

3.3.3.2 Índice de escurecimento

O índice de escurecimento (IE) foi determinado de acordo com Pen e Jiang (2003). De cada repetição, 10 tiras de folhas minimamente processadas foram avaliadas em relação ao seu escurecimento com base na proporção da área das folhas afetadas seguindo a escala de notas: 0= sem escurecimento, 1= surgimento de pontos de escuros (<1/5 da área total), 2=escurecimento moderado (entre 1/5 e 1/3 da área) e 3=escurecimento severo (área >1/2). O

IE foi calculado pela fórmula: $IE = \Sigma (\text{nota de escurecimento} \times \text{porcentagem da área afetada correspondente à amostra})$. Amostras com IE maior que 2 foram consideradas não comercializáveis.

3.3.3.3 Cor

A cor das folhas foi determinada pelos parâmetros Luminosidade (L), ângulo de cor Hue ($^{\circ}h$) e cromaticidade (C), por meio de colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, Mahwah, New Jersey) com iluminante D-65 e geometria 45/0. Para cada repetição, uma porção de escarola MP foi disposta em placa de Petri. O leitor do colorímetro foi posicionado em cima das folhas, sendo realizadas cinco leituras em pontos equidistantes em cada placa.

3.3.3.4 Clorofila e carotenoides totais

Para a quantificação dos pigmentos, 0,25 g de amostra triturada foram misturadas a uma solução de acetona 80%, sendo centrifugadas a $10.000 \times g$ por 10 minutos à $4^{\circ}C$. O sobrenadante foi usado para a medição dos pigmentos por meio de espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22) nos comprimentos de onda de 663, 646 e 470 nm para a determinação das clorofilas a, b e carotenoides respectivamente, a partir dos quais foram calculados os valores de clorofila e carotenoides totais, através das fórmulas descritas por Lichtentale (1987). Os resultados foram expressos em miligramas do pigmento por 100 gramas de matéria fresca ($mg\ 100\ g^{-1}\ MF$).

3.3.3.5 Teor de ácido ascórbico

O extrato para a análise foi preparado pela trituração de 30 g da escarola processada misturadas a 10 mL de água destilada. Essa mistura foi filtrada para a obtenção do extrato líquido. O teor de ácido ascórbico foi determinado através da titulação de uma alíquota de 10 mL do extrato de escarola diluídos em 50 mL de ácido oxálico (10%) com o indicador DCFI (2,6-diclorofenol indolfenol-sódio) até atingir a coloração rosada persistente por 15 segundos. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g de matéria fresca ($mg\ 100\ g^{-1}\ MF$) (CARVALHO et al., 1990).

3.3.3.6 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados de acordo com a metodologia de Singleton e Rossi (1965), com adaptações. O extrato foi preparado pela trituração de 1 g da amostra, adicionadas em 9 mL de etanol e centrifugadas a 15.000 x g a 4°C por 20 minutos. Para a leitura, foram misturados 0,3 mL do extrato vegetal com 0,75 mL de Folin-Ciocalteu 10%; 1,20 mL de água e 0,75 mL de carbonato de sódio 4%, que foram incubados no escuro por 2 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22) a 765 nm, em triplicatas. O cálculo dos compostos fenólicos totais foi realizado através da elaboração da curva padrão com ácido gálico. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de amostra fresca (mg EAG 100g⁻¹ MF).

3.3.3.7 Perda de massa

A perda de massa foi determinada pela diferença do peso inicial das amostras com os valores de peso obtidos a cada período de avaliação do experimento. Os resultados foram expressos em percentagem de perda de massa.

3.3.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x11, sendo quatro tratamentos e onze períodos de análise, incluindo o tempo zero (após o processamento) para as análises de cor, perda de massa, físico-químicas e bioquímicas. Foram utilizadas 3 repetições (uma embalagem por repetição) para as análises de cor, perda de massa, ácido ascórbico e triplicatas para as análises de pigmentos e compostos fenólicos. As análises de taxa respiratória e produção de etileno foram realizadas todos os dias durante o armazenamento, as quais foram realizadas utilizando 5 repetições.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$). A análise estatística foi realizada utilizando-se o software estatístico Statistical Analysis System modelo 9.3 (SAS, 2011).

3.4 Resultados e Discussão

3.4.1 Taxa respiratória e produção de etileno

O teste de Tukey de todas as análises realizadas é encontrado no Anexo A. A taxa respiratória (TR) das escarolas MP apresentou variações durante o armazenamento em todas as temperaturas estudadas (Figura 1). As menores TRs foram observadas no 1º dia de armazenamento após o processamento. Isso pode ter ocorrido possivelmente devido à redução no metabolismo das folhas, gerado pela redução da temperatura em que as escarola estavam anteriormente expostas no ambiente do processamento.

Figura 1 – Taxa respiratória (mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹) de escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas a 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=5$)

Os valores da TR após o processamento foram de 120 mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹, sendo reduzidos após 1 dia de armazenamento refrigerado em todos os tratamentos, alcançando valores de 17 mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹ a 0°C, redução equivalente a 85%. Comportamento similar foi observado em alface americana MP, a qual apresentou redução de 73% na taxa respiratória comparando os valores obtidos após 1 hora do processamento e após 24 horas de armazenamento refrigerado a 5°C (SMYTH; SONG; CAMERON, 1998).

A alta TR inicial em produtos MP ocorre em função do estresse causado pelo rompimento das membranas no corte, o posterior decréscimo na TR ocorre quando, sob

refrigeração, os mecanismos de reparação das células começam a agir, diminuindo assim, a TR (SALTVEIT, 2003).

Verificou-se pico na TR das amostras mantidas a 5, 10 e 15°C no 2º dia de armazenamento, as quais decresceram e mostraram variações nos demais períodos. Observou-se que a TR foi maior, à medida que a temperatura de armazenamento foi aumentada, havendo diferenças ($p < 0,01$) entre os tratamentos na maioria dos dias de análise. As escarolas estocadas a 0°C apresentaram a menor TR durante todo o armazenamento, mostrando variações até o 12º dia, a partir do qual, foi estabilizada e mantida até o fim do experimento.

As variações na TR relacionadas à temperatura podem ser explicadas pelo fato de que, à medida que a temperatura é elevada, a energia de ativação do CO₂ na respiração é reduzida significativamente, fazendo com que a barreira de energia para a liberação do CO₂ seja menor, fazendo com que a TR aumente (MATTOS et al., 2008). Outra explicação, seria o efeito da descompartimentalização das estruturas das células causada pelo corte, a qual promove o contato de complexos enzimáticos com seus substratos, aumentando a TR (SALTVEIT, 2003). Por outro lado, a TR pode ser diminuída quando as reações enzimáticas cessam, devido ao consumo total de substratos (PURVIS, 1997; DEL AGUILA et al., 2006).

Diversos trabalhos com produtos MP armazenados em diferentes temperaturas têm mostrado que a TR pode apresentar pequenas variações durante o armazenamento, mesmo que o produto seja mantido em uma única temperatura durante todo o período, verificando ainda, que a menor TR é observada para os produtos mantidos a temperaturas iguais ou mais próximas a 0°C (SPAGNOL; PAR; SIGRIST, 2006; BERNO et al., 2014; SASAKI et al., 2014).

O valor médio da taxa respiratória das escarolas MP mantidas a 0°C neste trabalho (140,06 mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹) foi superior aos observados em outras hortaliças folhosas MP mantidas na mesma temperatura, tais como em alface e espinafre que apresentaram taxas respiratórias de 7,6, 12,9 e 11,3 mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹ respectivamente (WATADA; KO; MINOTT, 1996). De acordo com a classificação de vegetais quanto à atividade respiratória, a escarola MP pode ser classificada como produto com taxa respiratória extremamente alta (>60 mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹) (KADER, 1992).

A produção de etileno (PE) dos tratamentos também variou durante o armazenamento (Figura 2). As folhas retidas a 15°C apresentaram a maior PE ($p < 0,01$) até o 4º dia de armazenamento, exibindo pico no 3º dia. Não foram observadas diferenças entre a PE das folhas armazenadas a 10°C e as demais até o 5º dia; essas amostras exibiram pico no dia

posterior. Não se verificou diferenças na PE das amostras mantidas a 5 e a 0°C até o 12º dia, sendo o pico detectado no 14º e 15º dia, respectivamente para essas amostras.

Figura 2 – Taxa de produção de etileno ($\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=5$)

A elevação e os picos na taxa de produção de etileno podem ocorrer, entre outros fatores, como consequência de reações bioquímicas e hormonais decorrentes do estresse causado pela etapa de corte no processamento. Estas reações objetivam reduzir o estresse e reparar os danos ocasionados (WATADA; ABE; YAMUCHI, 1990, SAKR; NOUBAHNI; BOURBOULOUX, 1997).

A PE é relatada como um dos fatores que pode aumentar a TR, isso acontece uma vez que o etileno é responsável pela expressão de enzimas associadas à produção de CO_2 (BRECHT, 1995). Isso explica o pico na TR das amostras mantidas a 15°C no 2º dia de armazenamento, visto a elevada PE observada nesse tratamento no mesmo período de ocorrência desse pico.

Os menores valores de PE foram atingidos pelas escarolas estocadas a 0°C. O armazenamento em baixas temperaturas favorece a inibição redução da síntese de etileno, bem como da síntese de ATP, a qual é necessária para a conversão de metionina em S-adenosilmetionina (SAM), o que consequentemente diminui a sensibilidade dos tecidos ao etileno, influenciando assim, na síntese desse gás (AWAD, 1993).

A PE no presente trabalho variou entre 0,05 e 1,87 $\mu\text{L Kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ dependendo da temperatura de armazenamento; porém, mesmo as amostras mantidas a 0°C chegaram a atingir valores relativamente altos (0,79 $\mu\text{L Kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ no 15º dia) comparando-se com a quantidade mínima produzida em que o etileno é fisiologicamente ativo (0,01 $\mu\text{L Kg}^{-1} \text{h}^{-1}$), mostrando que a escarola MP possui sensibilidade a esse gás. Este comportamento foi diferente dos observados em outras hortaliças, como a rúcula e a couve-flor MP, as quais não apresentam PE quando mantidas a 1°C (SIGRIST, 2002).

3.4.2 Índice de escurecimento e cor

Não foram verificadas interações entre as temperaturas de armazenamento testadas e o período de avaliação para o índice de escurecimento e os parâmetros de cor instrumental (Tabela 1). Entretanto, houve efeito ($p < 0,01$) dos dias de avaliação durante o armazenamento, para as variáveis de índice de escurecimento, luminosidade e cromaticidade. O teste de Tukey das médias dessas variáveis está exposto na tabela 3 do Anexo A.

Tabela 1 – Valor de F (ANOVA) do efeito das temperaturas de armazenamento e período de análise sobre os aspectos fisiológicos, nutricionais e de qualidade da escarola minimamente processada armazenada por 20 dias

Variável	Dia	Temperatura	Dia x Temperatura	C.V. (%)
Taxa respiratória ¹	129,30**	352,08**	17,66**	6,40
Produção de etileno ²	35,02**	77,27**	5,48**	4,84
Luminosidade	8,50**	1,63 ns	1,69 ns	5,24
Ângulo hue	2,05 ns	3,60 ns	1,31 ns	0,82
Cromaticidade	2,96**	1,50 ns	2,68 ns	5,59
Índice de escurecimento ³	11,67**	2,72 ns	1,58 ns	32,06
Teor de ácido ascórbico	20,27**	9,68**	3,83**	7,79
Clorofila total ⁴	283,57**	245,72**	30,02**	1,87
Carotenoides totais ⁵	97,50**	104,52**	11,75**	12,45
Compostos fenólicos	44,94**	126,50**	47,99**	6,14
Perda de massa ⁶	34,62**	28,42**	5,03**	8,80

Os resultados foram obtidos da média de três repetições. **: $P \leq 0,01$; *: $P \leq 0,05$; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação. 1=dados transformados, valor de lambda: $x^{0,5}$; 2= x^{-1} ; 3= x^{-2} ; 4= x^0 ; 5= x^0 ; 6= x^{-1}

O índice de escurecimento das amostras armazenadas a 15, 10 e 5°C ultrapassou a nota limite de comercialização nos 6º, 10º e 16º dias de armazenamento respectivamente (Figura 3). As amostras mantidas a 0°C conservaram aparência comercial até o 20º dia. Durante todo o experimento, não foram observados sintomas de injúria por frio nas amostras. O escurecimento das folhas durante o armazenamento está exposto na figura 1 do Anexo A.

Figura 3 – Índice de escurecimento em folhas de escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Embora as folhas tenham apresentado escurecimento, este não foi refletido pela análise instrumental de L (Figura 4), que apresentou pequenas variações durante os períodos de análise do experimento, o mesmo ocorreu com a análise de cromaticidade (Figura 5). Variações nos parâmetros instrumentais de cor podem ocorrer devido à ausência de uniformidade na cor das folhas (MANOLOPOULOU et al., 2010). O ângulo hue (Figura 6) não diferiu durante o armazenamento, apresentando média de 119,06, que juntamente com os valores médios de L e C correspondentes a 53,46 e 35,94 respectivamente, caracterizam a cor das folhas como verde, com brilho e intensidade mediana.

Figura 4 – Luminosidade de folhas de escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Figura 5 – Cromaticidade de folhas de escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Figura 6 – Ângulo hue de folhas de escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

A tendência do IE neste trabalho foi diferente da observada em espinafre MP, o qual excedeu o limite de escurecimento e de qualidade visual aceitável após 8 e 6 dias de armazenamento a 4 e a 10°C respectivamente (PANDRANGI; LABORDE, 2004). O comportamento dos dados referentes aos parâmetros de cor instrumental na escarola MP está em acordo com o verificado em outros trabalhos realizados com hortaliças folhosas MP, os quais observaram que estes dados pouco se modificam e não mostram diferenças significativas quando armazenados em diferentes temperaturas (DEL NOBILE et al., 2006; PANDRANGI; LABORDE, 2004).

3.4.3 Clorofila e carotenoides totais

Houve decréscimo constante nos teores de clorofila (Figura 4) e carotenoides totais (Figura 5) da escarola MP independentemente da temperatura de armazenamento. A degradação dos carotenoides seguiu a mesma tendência que a da clorofila, visto que estes pigmentos estão estritamente relacionados. Os carotenoides são mascarados pela clorofila em hortaliças folhosas e, estes possuem ação protetora contra a foto-oxidação da clorofila durante o crescimento (BISWALL, 1995). Observou-se que a deterioração dos pigmentos ocorreu em função do tempo e da maior temperatura de armazenamento.

Figura 4 – Teor de clorofila total ($\text{mg } 100\text{g}^{-1} \text{ MF}$) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Figura 5 – Teor de carotenoides totais ($\text{mg } 100\text{g}^{-1} \text{ MF}$) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

A perda dos pigmentos foi maior ($p<0,01$) para as folhas mantidas nas temperaturas de 15 e 10°C, as quais não diferiram entre si. Essas amostras apresentaram perdas de pigmentos, equivalentes a 44% já no 4º dia para ambas temperaturas, chegando a atingir 69% de perda em relação ao valor inicial para as amostras mantidas a 10°C no 6º dia de armazenamento.

A perda de clorofila das amostras armazenadas nas temperaturas mais altas, pode estar relacionada com a produção de etileno ocorrida nesses tratamentos, visto que foram

observados picos de etileno nos dias correspondentes as maiores perdas observadas. O etileno é, entre outros fatores, um dos responsáveis pela degradação da clorofila, uma vez que ele induz a atividade da enzima clorofilase, bem como por estimular a atividade da enzima Mg-dequelatase, a qual elimina o magnésio dos clorofilídeos, formando feofitinas, que são compostos escuros, alterando assim a cor do tecido (ABE; WATADA, 1991; WATADA; ABE; YAMUCHI, 1990; COSTA et al., 2005).

Considerando que os carotenoides presentes em hortaliças folhosas são encobertos pela clorofila, quanto esta última é deteriorada, os carotenoides são expostos e ficam extremamente suscetíveis a degradação (BUNEA et al., 2008; LESKOVA et al., 2006). A degradação dos pigmentos das folhas está associada com a perda de cor ou escurecimento do tecido (FERRANTE; MAGGIORE, 2007). Isso explicaria em parte, o porquê das amostras mantidas nas temperaturas mais altas apresentarem maiores índices de escurecimento.

Não houve diferenças entre o teor de pigmentos entre as folhas de escarola armazenadas nas temperaturas de 0 e 5°C a partir do 6º dia de armazenamento. Essas amostras apresentaram perdas correspondentes a 53% no 14º dia e de 70% do valor inicial para as amostras mantidas a 0°C no último dia de análise. Estas amostras demonstraram deterioração mais lenta dos pigmentos devido à redução em suas atividades metabólicas, proporcionada pela baixa temperatura.

A temperatura é o principal fator envolvido na conservação do conteúdo de pigmentos em hortaliças folhosas MP (FERRANTE et al., 2004; FERRANTE; MAGGIORE, 2007; VINA; CHAVES, 2003). A porcentagem de perda de pigmentos obtidas na escarola MP foi superior a observada em espinafre MP, armazenado em diferentes temperaturas (PANDRANGI; LABORDE, 2004).

Os valores iniciais de clorofila e carotenoides totais foram de 35,07 e 3,39 mg 100 g⁻¹ MF, respectivamente. Esses valores se assemelham aos verificados em alface bebê, que apresenta valores de clorofila e carotenoides de 49 e 1,7 mg 100 g⁻¹ MF respectivamente. (SPINARDI; FERRANTE, 2012).

3.4.4 Teor de ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico (AA) das folhas de escarola MP foi maior ($p < 0,01$) para as amostras mantidas a 0 e a 5°C (Figura 6). O teor desse ácido não diferiu entre essas amostras até o 12º dia, sendo que no dia posterior a este, o AA diminuiu nas amostras a 5°C. Observou-se redução no teor de AA em todas as amostras, independente da temperatura.

Figura 6 – Teor de ácido ascórbico ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Constatou-se que a tendência de degradação do AA também ocorreu em função de temperaturas mais altas e do tempo de armazenamento. As amostras armazenadas nas maiores temperaturas demonstraram decréscimo mais acelerado do teor de AA. No 4º dia do experimento, as amostras refrigeradas a 15°C conservaram 71% do seu valor inicial, enquanto que as mantidas a 10°C, retiveram 83%.

As amostras a 0°C tiveram 63% do valor inicial de AA conservado no 20º dia de armazenamento, enquanto que as armazenadas a 5°C, retiveram 60% do teor de AA no 14º dia. Isso poderia ser explicado pelo efeito do armazenamento prolongado sobre o AA, o qual mesmo sob baixas temperaturas continua consumido como substrato nas reações metabólicas de defesa do vegetal.

O teor de AA em frutas e hortaliças geralmente tende a cair ao longo do armazenamento (LEE; KADER, 2000). A degradação do AA ocorre pela atividade da enzima ascorbato oxidase, a qual na presença de oxigênio, converte o AA em ácido dehidroascórbico (DHA) (SAARI et al., 1995). A perda de AA pode ser acelerada sob condição de estresse, tais como o ataque de patógenos ou por danos gerado na etapa de corte no durante o processamento mínimo (LEE; KADER, 2000).

O menor teor de AA observado nas amostras mantidas a 5°C, pode ter ocorrido em função do pico de produção de etileno mostrado no 14º dia. A produção de etileno poderia ter estimulado a atividade da ACC oxidase, tendo em vista que o processamento pode

incrementar a produção desse gás, principalmente em temperaturas mais altas, proporcionando maior degradação do AA (COCETTA et al., 2014).

Pelo comportamento de deterioração do AA na escarola MP pode-se classificá-la como hortaliça que apresenta grau de retenção médio de AA, o qual varia entre 60 e 83% (LEE; KADER, 2000). Valores de retenção de AA semelhantes, variando entre 56 e 98%, foram observados em cultivares de brócolis armazenados a 2°C por 21 dias. Os valores iniciais de AA na escarola foram um pouco superiores aos obtidos em espinafre bebê MP, correspondentes a 19,41 mg 100 g⁻¹ MF (COCETTA et al., 2014).

3.4.5 Compostos fenólicos totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT) nas escarolas MP apresentaram variações ($p < 0,01$) durante o armazenamento (Figura 7). Os maiores valores de CFT foram observados nas amostras mantidas a 10°C no 6º dia. As amostras mantidas a 0 e 5°C apresentaram diferenças no 4º dia e depois somente a partir do 10º dia. As a 5°C exibiram pico no conteúdo de CFT no 10º e no 14º dia. As amostras refrigeradas a 0º mostraram as menores oscilações até o fim do experimento.

Figura 7 – Compostos fenólicos totais (mg equivalente ácido gálico 100 g⁻¹ MF) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Os compostos fenólicos são produzidos pelo metabolismo secundário das plantas a partir da via do ácido chiquímico, variando em estrutura química (TOMÁS-BARBERÁN;

ESPÍN, 2001). As oscilações nos CFT durante o armazenamento ocorrem por vários fatores. Podem ocorrer conversões livres entre os grupos fenólicos e suas ligações (FERRANTE; MAGGIORE, 2007). Esses compostos também podem ser consumidos como substratos pelas enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD), envolvidas nos mecanismos de defesa vegetal e escurecimento dos tecidos (BOO et al., 2011; ZHANG et al., 2006).

Os CFT também estão sujeitos a alterações em função do armazenamento, temperatura, estágio de desenvolvimento, respiração, etileno e processamento (CHISARI et al., 2010; FERRANTE; MARTINETTI; MAGGIORE, 2009; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ et al., 2013; KOUKOUNARAS; SIOMOS; SFAKIOTAKIS, 2007). Variações no conteúdo de CFT em cultivares de alface MP foram observadas durante o armazenamento em diferentes temperaturas, com os menores valores verificados nas folhas mantidas em menor temperatura (4°C) (FERRANTE; MAGGIORE, 2007; FERRANTE; MARTINETTI; MAGGIORE, 2009).

O menor conteúdo de CFT nas amostras refrigeradas a 0°C pode ser devido à redução das reações metabólicas na escarola, refletidas pela baixa taxa respiratória e produção de etileno. Portanto, a biossíntese dos CFT poderia ser reduzida, já que sua produção é induzida em condições de estresse pela enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) (CANTOS; ESPÍN; TOMÁS-BARBERÁ, 2001).

Os valores iniciais de CFT foram de 109,13 mg EAG 100 g⁻¹ MF, chegando a variar entre 61 e 129,30 mg EAG 100 g⁻¹ MF durante o armazenamento, conteúdo muito superior aos observados em diversas cultivares de alface MP mantidas sobre diferentes temperaturas, que podem chegar a variar entre 2 e 3,1 mg EAG 100 g⁻¹ MF. Os teores de CFT verificados na escarola nesse trabalho, foram inferiores aos encontrados em rúcula MP, correspondentes a 158 mg EAG 100 g⁻¹ MF (KOUKOUNARAS; SIOMOS; SFAKIOTAKIS, 2010).

3.4.6 Perda de massa

A perda de massa (PM) das escarolas MP aumentou em todos os tratamentos durante o armazenamento (Figura 8). A maior PM ($p < 0,01$) foi observada nas amostras mantidas a 15°C, as quais atingiram perdas de 3%. As amostras armazenadas nas demais temperaturas não mostraram diferenças na PM até o 14º dia, no qual as amostras a 5°C alcançaram 1,17% de perda, valor maior do que as mantidas em 0°C, que não ultrapassaram 0,5%.

Figura 8 – Perda de massa (%) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

A PM dentre vários fatores, depende principalmente da transpiração do vegetal, sendo diretamente proporcional à diferença de pressão de vapor de água entre os tecidos internos e o ambiente em que ele está exposto (KADER 2013; ZHAN et al., 2012). Quando em excesso, a PM pode causar perdas de qualidade, refletidas na aparência e, textura dos produtos (KADER, 1992). A maior PM nas amostras mantidas a 15°C pode ser atribuída a maior taxa respiratória observada nestas, já que a respiração contribui para a perda de massa.

Dependendo do produto, este pode ser comercializado com até 10% de perda de massa, entretanto, perdas entre 3 e 6% são consideradas suficientes para diminuir a qualidade (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Valores de PM semelhantes aos obtidos neste trabalho, foram observados nas alfaces americana e romana e em chicória MP armazenadas em diferentes temperaturas, que não ultrapassaram perdas de 6% durante o armazenamento (PIAGENTINI et al., 2005).

3.5 Conclusão

A conservação da escarola minimamente processada está relacionada diretamente com a temperatura de armazenamento, sendo mais eficiente em baixas temperaturas. A temperatura de 0°C é a mais recomendável, manteve qualidade visual comercializável por um período de até 20 dias. Essa temperatura proporcionou redução da taxa respiratória e da perda de massa, bem como foi a que melhor conservou os teores de ácido ascórbico e de pigmentos

dessa hortaliça. Ressalta-se ainda, que não foram observados sintomas de dano pelo frio no produto durante o experimento.

Referências

- ABE, K.; WATADA, A. E. Ethylene absorbent to maintain quality of lightly processed fruits and vegetables, **Journal of Food Science**, Malden, v. 56, n. 6, p. 1589-1592, 1991.
- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114 p.
- BALBACH, A.; BOARIM, D.S.F. **As hortaliças na medicina natural**. 2. ed. São Paulo: Missionária, 1992. 291 p.
- BERNO, N.D.; TEZOTTO-ULIANA, J.V.; DOS SANTOS DIAS, C.T.; KLUGE, R.A. Storage temperature and type of cut affect the biochemical and physiological characteristics of fresh-cut purple onions. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 93, n. 1, p. 91-96. 2014.
- BISWALL, B. Carotenoid catabolism during leaf senescence and its control by light. **Journal of Photochemistry and Photobiology Biology**, Quebec, v. 30, p. 3–14, 1995.
- BOO, H.O.; HEO, B.G.; GORINSTEIN, S.; CHON, S.U. Positive effects of temperature and growth conditions on enzymatic and antioxidant status in lettuce plants. **Plant Science**, Davis, v. 181, n. 4, p. 479-484, 2011.
- BRECHT, J.K., Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **Hortscience**, Alexandria, v. 30, p. 1-14, 1995.
- BUNEA, A.; ANDJELKOVIC, M.; SOCACIU, C.; BOBIS, O.; NEACSU, M.; VERHÉ, R.; CAMP, J.V. Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.). **Food Chemistry**, New York, v. 108, n. 2, p. 649–656, 2008.
- CANTOS, E.; ESPÍN, J.C.; TOMÁS-BARBERÁ, F.A. Effect of wounding on phenolic enzymes in six minimally processed lettuce cultivars upon storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 49, n. 1, p. 322–330, 2001.
- CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R M. **Análises químicas: manual técnico**. Campinas: ITAL, 1990. 121 p.
- CARVALHO, B.A. **Conheça melhor as hortaliças**. Campo Grande: EMPAER, 1988. 71 p. (Documentos, 17).
- CENCI, S.A. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. 144 p., 2011.

CHISARI, M.; TODARO, A.; BARBAGALLO, R.N.; SPAGNA, G. Salinity effects on enzymatic browning and antioxidant capacity of fresh-cut baby Romaine lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Duende). **Food Chem.**, New York, v. 119, n.4, p. 1502-1506, 2010.

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

COCETTA, G.; BALDASSARRE, V.; SPINARDI, A.; FERRANTE, A. Effect of cutting on ascorbic acid oxidation and recycling in fresh-cut baby spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 88, p. 8-16, 2014.

COSTA, M.L.; CIVELLO, P.M.; CHAVES, A.R.; MARTÍNEZ, G.A. Effect of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L.) at 20 °C. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 35, n. 2, p. 191-199, 2005.

COZZOLINO, R.; MARTIGNETTI, A.; PELLICANO, M. P.; STOCCHERO, M.; CEFOLA, M.; PACE, B.; DE GIULIO, B. Characterization of volatile profile and sensory analysis of fresh-cut "Radicchio di Chioggia" stored in air or modified atmosphere. **Food Chemistry**, New York, v. 192, n. 1, p. 603-611, 2016.

DEL AGUILA, J.S.; SASAKI, F.F.; HEIFFIG, L.S.; ORTEGA, E.M.M.; JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A. Fresh-cut radish using different cut types and storage temperatures. **Postharvest Biol. and Technol.**, Amsterdam, v. 40, p. 149- 154, 2006.

DEL NOBILE, M.A.; BAIANO, A.; BENEDETTO, A.; MASSIGNAN, L. Respiration rate of minimally processed lettuce as affected by packaging. **Journal of Food Engineering**, Ayrslsey, v. 74, n. 1, p. 60-69. 2006.

FERRANTE, A.; MAGGIORE, T. Chlorophyll a fluorescence measurements to evaluate storage time and temperature of Valeria-nella leafy vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 45, p. 73– 80, 2007.

FERRANTE, A.; MARTINETTI, L.; MAGGIORE, T. Biochemical changes in cut vs. intact lamb's lettuce (*Valerianella olitoria*) leaves during storage. **Internationa Journal of Food Science and Technology**, Basel, v. 44, n.1, p. 1050-1056, 2009.

FERRANTE, A.; INCROCCI, L.; MAGGINI, R.; SERRA, G.; TOGNONI, F. Colour changes of fresh-cut leafy vegetables during storage. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, Helsinki, v. 2, p. 40–44, 2004.

GIMENA, E.F.; KAZUHIDE, K.; TOSHIYUKI, M. Effects of storage temperature on the keeping quality of malabar spinach (*Basella alba* L.). **Food Preservation Science**, Tokyo, v. 26, n. 4, p. 211-217, 2000.

HERNÁNDEZ, A.E.; MÁRQUEZ CARDOZO, C.J.; RESTREPO FLORES, C.E.; CANO SALAZAR, J.A.; PATIÑO GÓMEZ, J.H. Aplicación de tratamiento térmico, recubrimiento comestible y baño químico como tratamientos poscosecha para la conservación de hortalizas mínimamente procesadas, **Acta Agronómica**, Bogotá, v. 63, n. 1, p. 1-10, 2014.

JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. Temperature dependence of shelf-life as affected by microbial proliferation and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh produce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 26, p. 59–73, 2002.

JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; DE RUDDER, T.; DEBEVERE, J. Designing equilibrium modified atmosphere packages for fresh-cut vegetables subjected to changes in temperature. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie Food Science and Technology**, Georgia, v. 33, n. 1, p. 178–187, 2000.

KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. Davis: University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 1992. 296 p.

KADER, A.A. Postharvest technology of horticultural crops: an overview from farm to fork. **Ethiopian Journal of Applied Science and Technology**, Bahir Dar, n. 1, p. 1- 8, 2013. Special issue.

KOUKOUNARAS, A.; SIOMOS, A.S.; SFAKIOTAKIS, E. Postharvest CO₂ and ethylene production and quality of rocket (*Eruca sativa* Mill.) leaves as affected by leaf age and storage temperature. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, p. 167–173, 2007.

KOUKOUNARAS, A.; SIOMOS, A. S.; SFAKIOTAKIS, E. Effects of degree of cutting and storage on atmosphere composition, metabolic activity and quality of rocket leaves under modified atmosphere packaging. **Journal of Food Quality**, Malden, v. 33, p. 303-316, 2010.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, n. 3, p. 207–220, 2000.

LESKOVA, E.; KUBIKOVA, J.; KOVACIKOVA, E.; KOSICKA, M.; PORUBSKA, J.; HOLCIKOVA, K. Vitamin losses: retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. **Journal of Food Composition and Analysis**, Paris, v. 19, p. 252–276, 2006.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, Davis, v. 148, p. 350-382, 1987.

MANOLOPOULOU, E.; VARZAKAS, T. Effect of Storage conditions on the sensory quality, colour and texture of fresh-cut minimally processed cabbage with the addition of ascorbic acid, citric acid and calcium chloride. **Food and Nutrition Sciences**, Bologna, v. 2, n. 1, p. 956-963, 2011.

MANOLOPOULOU, H.; LAMBRINOS, G.; CHATZIS, E.; XANTHOPOULOS, G.; ARAVANTINOS, E. Effect of temperature and modified atmosphere packaging on storage quality of fresh-cut romaine lettuce. **Journal of Food Quality**, Malden, v. 33, p. 317-336, 2010.

- MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G.B.; ARTÉS-HERNÁNDEZ, F.; GÓMEZ, P.A.; ANA C. FORMICAC, A.C.; ARTÉS, F. Combination of electrolysed water, UV-C and superatmospheric O₂ packaging for improving fresh-cut broccoli quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 76, n. 1, p. 125–134, 2013.
- MATTOS, L.M.; MORETTI, C.L.; CHITARRA, A.B.A.; CHITARRA, M.I.F. Respiratory activity and ethylene evolution of fresh-cut crisphead lettuce stored under two temperatures, **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1985-1990, 2008.
- MORETTI, C.L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças; Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, 2007. 531 p.
- OLIVEIRA, M.; ABADIAS, M.; USALL, J.; TORRES, R.; TEIXIDO, N.; VINAS, I. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 46, n. 1, p. 13-26, 2015.
- PANDRANGI, S.; LABORDE, L.F. Retention of folate, carotenoids, and other quality characteristics in commercially packaged fresh spinach. **Journal of Food Science**, Malden, v.69, n.9, p. 702-707, 2004.
- PEN, L.T.; JIANG, Y.M. Effects of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut Chinese water chestnut. **Lwt-Food Science and Technology**, Georgia, v. 36, n. 3, p. 359–364, 2003.
- PIAGENTINI, A.M.; MENDEZ, J.C.; GUEMES, D.R.; PIROVANI, M.E. Modeling changes of sensory attributes for individual and mixed fresh-cut leafy vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 38, n. 3, p. 202-212, 2005.
- PILON, L. **Estabelecimento da vida útil de hortaliças minimamente processadas sob atmosfera modificada e refrigeração**. 2003. 111 p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.
- 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.
- ROCCULI, P.; GALINDO, F.G.; MENDONZA, F.; WADSÖ, L.; ROMANI, S.; DALLA ROSA, M.; SJÖHOLM, I. Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 151-157, 2007.
- SAARI, N.B.; FUJITA, S.; MIYAZOE, R.; OKUGAWA, M. Distribution of ascorbate oxidase activities in the fruits of family cucurbitaceae and some of their properties. **Journal of Food Biochemistry**, Malden, v. 19, n. 1, p. 321–327, 1995.
- SAKR, S.; NOUBAHNI, M.; BOURBOULOUX, A. Cutting, ageing and expression of plant membrane transporters. **Biochimica et Biophysica Acta**, Cambridge, v. 1330, p. 207-216, 1997.

SALTVEIT, M.E. Fresh-cut vegetables. In: BARTZ, J.A., BRECHT, J.K. **Postharvest physiology and pathology of vegetables**. New York: Marcel Dekker, 2003. p. 691-712.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT 9.3: user's guide**. Cary, 2011. 8621 p.

SASAKI, F.F.C.; DEL AGUILA, J.S.; GALLO, C.R.; JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A. Physiological, qualitative and microbiological changes of minimally processed squash stored at different temperatures. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, México, v. 15, n.2, p. 210-220, 2014.

SCHLIMME, D.V. Marketing lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v. 30, p. 15-17, 1995.

SIGRIST, J.M.M. **Estudos fisiológicos e tecnológicos de couve-flor e rúcula minimamente processada**. 2002. 112 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p. 144-158, 1965.

SMYTH, A.B.; SONG, J.; CAMERON, A.C. Modified atmosphere packaged cut Iceberg lettuce: effect of temperature and CO₂ partial pressure on respiration and quality. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, New York, v. 46, p. 4556-4562, 1998.

SPAGNOL, W.A.; PARK, K.J.; SIGRIST, J.M.M. Taxa de respiração de cenouras minimamente processadas e armazenadas em diferentes temperaturas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 550-554, 2006.

SPINARDI, A.; FERRANTE, A. Effect of storage temperature on quality changes of minimally processed baby lettuce. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 10, n. 1, p. 38-42, 2012.

TIVERON, A.P.; MELO, P.S.; BERGAMASCHI, K.B.; VIEIRA, T.M.F.S.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; ALENCAR, S.M. Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 13, n. 7, p. 8943-8957. 2012.

TOMÁS-BARBERAN, F.; ESPIN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Weinheim, v. 81 n. 9, p. 853-876, 2001.

VINA, S.Z.; CHAVES, A.R. Texture changes in fresh cut celery during refrigerated storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Weinheim, v. 83, p. 1308-1314, 2003.

WATADA, A.E.; ABE, K.; YAMUCHI, N. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v. 44, p. 116-122, 1990.

WATADA, A.E.; KO, N.P.; MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 115-125, 1996.

ZHAN, L.; HU, J.; LI, Y.; PANG, L. Combination of light exposure and low temperature in preserving quality and extending shelf-life of fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* L.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 72, p. 76-81, 2012.

ZHANG, L.K.; LU, Z.X.; LU, F.X.; BIE, X.M. Effect of gamma irradiation on quality-maintaining of fresh-cut lettuce. **Food Control**, Amsterdam, v. 17, n. 3, p. 225-228, 2006.

4 QUALIDADE DA ESCAROLA MINIMAMENTE PROCESSADA MANTIDA EM ATMOSFERA MODIFICADA PASSIVA

Resumo

A escarola é uma hortaliça folhosa com alto valor nutricional e funcional, mostrando forte potencial para o processamento mínimo. Entre as técnicas para prolongar a vida útil desses produtos, a atmosfera modificada é uma das mais utilizadas. Objetivou-se avaliar a qualidade da escarola minimamente processada mantida em atmosfera modificada passiva, através das embalagens: policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP) e polipropileno bi-orientado (BOPP) durante o armazenamento a 0°C e 90-95% UR por 20 dias. Foram analisadas: as concentrações de O₂ e CO₂ nas embalagens, perda de massa, L, C, °h e índice de escurecimento, os teores de ácido ascórbico, clorofila, carotenoides e compostos fenólicos totais e a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase. Entre os filmes estudados, constatou-se que as concentrações de 16 % de O₂ e 3% de CO₂ formadas no interior do filme de PVC, proporcionaram o menor índice de escurecimento das folhas e maior conservação dos teores de ácido ascórbico, clorofila e carotenoides totais. Durante o experimento, não foram verificadas diferenças nos compostos fenólicos totais e a atividade da PPO entre os tratamentos, enquanto que a atividade da POD apresentou picos em diferentes períodos de análise. Observou-se ainda, que a escarola minimamente processada apresenta sensibilidade a altas concentrações de CO₂. O filme de PVC proporcionou melhor conservação da qualidade visual e nutricional da escarola minimamente processada por um período de 20 dias.

Palavras-chave: *Cichorium endivia* var. *latifolia* L.; Clorofila; Atividade enzimática; Embalagem; Compostos antioxidantes

Abstract

Escarole is a leafy vegetable with high nutritional functional values, it has a high potential for the fresh cut market. Among the techniques to extend the shelf life of these products, the modified atmosphere is one of the most used. This research aimed to evaluate the quality of fresh cut escarole under passive modified atmosphere, through different plastic packaging: polyvinyl chloride (PVC), low-density polyethylene (LDPE), polypropylene (PP) and bi-oriented polypropylene (BOPP) during storage at 0° C and 90-95% RH for 20 days. Were analyzed: O₂ and CO₂ concentrations on the headspace of the packages, weight loss, color parameters, L *, C *, °h and browning index, ascorbic acid content, total chlorophyll and carotenoids content, total phenolic content and the activity of polyphenoloxidase and peroxidase enzymes. Among the films studied, the concentrations of 16% O₂ and 3% of CO₂ formed inside the PVC film provided the lowest browning index and better conservation of ascorbic acid, chlorophyll and carotenoids. During the experiment, differences in phenolic compounds and PPO activity among treatments were not observed, while the activity of POD showed peaks in different periods of analysis. It was also observed that the fresh cut escarole shows sensitivity to high CO₂ concentrations. The PVC film provided the best preservation of visual and nutritional quality of fresh cut escarole for 20 days.

Keywords: *Cichorium endivia* var. *latifolia* L.; Chlorophyll; Enzymatic activity; Packaging; Antioxidant compounds

4.1 Introdução

O mercado de produtos minimamente processados (MP) é um dos seguimentos que mais cresce no setor alimentar, em função da alta demanda dos consumidores por alimentos frescos, saudáveis, sem a adição de conservantes e de fácil preparo e consumo (COZZOLINO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2015). Segundo a *International Fresh-Cut Produce Association* (IFPA), estes produtos compreendem frutas ou vegetais que passam pelo processo de corte ou descasque, disponibilizando um produto ainda fresco, com alto valor nutritivo, sabor e conveniência (OLIVEIRA et al., 2015).

Devido às etapas de descascamento e corte, os MP são altamente perecíveis, apresentando alta taxa respiratória e deterioração dos tecidos, o que torna necessário a utilização de baixas temperaturas para garantir uma vida útil adequada para a comercialização. Juntamente com a baixa temperatura, técnicas complementares como a atmosfera modificada tem sido utilizada para retardar o metabolismo e aumentar a vida útil desses produtos. Essa técnica controla a deterioração, reduz a perda de água e retarda o crescimento de microrganismos (ESTURK et al., 2014; MANTILLA et al., 2010).

A atmosfera modificada (AM) consiste na alteração do conteúdo de gases dentro da embalagem, a qual pode ser obtida passivamente, pela interação entre a respiração do produto e a taxa de transmissão de gases da embalagem quando selada, ou de maneira ativa, quando se injeta uma mistura gasosa conhecida dentro do filme no momento da embalagem (SARANTÓPOULOS, 2011). A modificação passiva da atmosfera caracteriza-se como uma técnica de simples aplicação e de baixo custo para a conservação dos MP (JIANG; JOYCE; TERRY, 2001). Quando a respiração do produto condiz com a permeabilidade do filme, a atmosfera de equilíbrio é alcançada, prolongando, assim, a vida útil do produto (OLIVEIRA et al., 2015).

Dos fatores a serem observados para a obtenção da AM, o mais crítico é a escolha da embalagem, em observação à sua taxa de permeação aos gases. Se uma embalagem com taxa de transmissão de oxigênio muito baixa for utilizada em MP com alta taxa respiratória, pode ocorrer redução do nível interno de O_2 , o que provoca a respiração anaeróbica e, conseqüentemente o surgimento de atributos indesejáveis para o mercado, além de aumentar o risco de contaminação por patógenos anaeróbicos (CHINSIRIKUL et al., 2014). Por outro lado, altos teores de CO_2 podem causar injúrias, como a necrose, desenvolvimento de sabor e odor desagradáveis e acelerar a perda nutricional e degradação dos tecidos vegetais (HODGES; TOIVONEN, 2008; POUBOL; IZUMI, 2005).

A qualidade dos MP é baseada em uma série de características atrativas ao consumidor, como a aparência, textura, sabor e o valor nutricional. Porém, essas características são afetadas ao longo do armazenamento. Em alface MP, por exemplo, podem ocorrer amarelecimento das folhas, escurecimento nos pontos de corte, além de distúrbios fisiológicos, como *russet spotting* (surgimento de pontos marrons sobre a nervura central). Esses sintomas podem ser atenuados ou até mesmo intensificados, em função do teor de gases formados no interior das embalagens utilizadas em seu acondicionamento (MANOLOPOULOU et al., 2010; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ et al., 2011).

A escarola (*Cichorium endivia* var. *latifolia* L.) é uma hortaliça da família Asteraceae, que possui folhas largas, alongadas e lisas (FILGUEIRA, 2003). Ela se destaca devido às suas propriedades funcionais e valor nutritivo, sendo uma importante fonte de vitaminas A, B e C e minerais, como cálcio e ferro (CARVALHO, 1988). É também uma fonte rica de compostos bioativos, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos e os carotenoides, que possuem ação antioxidante, prevenindo doenças degenerativas no organismo humano (TIVERON et al., 2012; MASCHERPA et al., 2012; AZEVEDO-MELEIRO et al., 2005).

Por essas propriedades e pela crescente demanda em produtos saudáveis e prontos para o consumo, a escarola apresenta potencial para o mercado de MP, entretanto, os poucos estudos relacionados a esse vegetal como MP foram realizados apenas em relação ao risco microbiológico (WULFKUEH et al., 2013; ALLENDE et al., 2008; BENNIK et al., 1996; CARLIN; NGUYENTHE; MORRIS, 1996), sensibilidade ao escurecimento (DELG' INNOCENTI et al., 2007) e perdas de compostos antioxidantes ao longo do armazenamento (AZEVEDO-MELEIRO et al., 2005), havendo carências de estudos quanto ao uso de diferentes embalagens sobre a qualidade dessa hortaliça.

4.2 Objetivo

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da atmosfera modificada passiva sobre os aspectos visuais, fisiológicos, bioquímicos e nutricionais da escarola minimamente processada.

4.3 Material e Métodos

4.3.1 Obtenção da matéria-prima

Cabeças de escarola cultivar Amazonas Gigante foram obtidas de cultivo convencional em Tanquinho, zona rural de Piracicaba, São Paulo, Brasil (22°34'00" de latitude Sul, 47°36'16" de longitude Oeste, e altitude de 609 m). As cabeças foram colhidas 68 dias após a semeadura, durante a safra de inverno, no mês de julho de 2015. Elas foram transportadas para laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita da Universidade de São Paulo, ESALQ – Piracicaba, com o tempo de trajeto do transporte inferior a uma hora. As cabeças foram armazenadas em câmara fria a 15°C e 90-95% UR por 1 dia, sendo processadas no dia seguinte.

4.3.2 Instalação do experimento

As cabeças foram uniformizadas em relação à cor, tamanho e ausência de danos mecânicos e causados por pragas. As cabeças selecionadas foram lavadas com água corrente para a retirada de sujidades, tendo a base da cabeça cortada para a separação das folhas, as quais passaram por nova seleção. As folhas lavadas foram transferidas para câmara fria a 15°C, para a realização do processamento.

Todo o ambiente bem como os materiais utilizados no processamento, tinham sido previamente higienizados e desinfetados. As folhas foram sanitizadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio (200 mg L⁻¹) a 5°C durante 10 minutos. Após a sanitização, as folhas inteiras, incluindo as mais tenras, foram cortadas manualmente em tiras com largura aproximada de 3 cm com o auxílio de facas de aço inoxidável. As fatias foram novamente sanitizadas por 5 minutos e centrifugadas por 1,5 minutos em centrífuga doméstica (Arno, São Paulo, SP, Brasil) com velocidade angular média de 760 x g para a retirada do excesso de água.

Após o corte, as folhas de escarola foram acondicionadas em embalagens de diferentes filmes plásticos: polietileno de baixa densidade (PEBD), considerado padrão de armazenamento; polipropileno (PP); polipropileno bi-orientado (BOPP) e PVC (policloreto de polivinila). As três primeiras embalagens possuíam dimensões de 21 x 24 cm e foram termoseladas. Para a embalagem com o PVC, as folhas foram dispostas em bandejas de poliestireno expandido (21 x 14,5 x 1,5 cm), as quais foram envoltas com o filme plástico, sendo

posteriormente termo-seladas na parte inferior das bandejas. Todas as embalagens foram armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 20 dias. As análises foram realizadas no dia 0, logo após o processamento e depois seguindo intervalos de quatro dias até o 20º dia do experimento.

4.3.3 Análises realizadas

4.3.3.1 Concentração de gases no interior das embalagens

As concentrações de gases no espaço interior das embalagens foram monitoradas a cada 4 dias durante 20 dias de armazenamento refrigerado utilizando um analisador de gases CheckMate 9900 O₂/CO₂ PBI Dansensor (Minneapolis, MN, USA). As amostras de gases foram tomadas através de uma seringa (agulha hipodérmica) acoplada por septos de silicone previamente fixados em embalagens individuais. Os valores foram expressos em porcentagem. A análise de gases do dia 0 foi realizada após 1 hora da selagem das embalagens, as quais estavam mantidas nas condições de armazenamento do experimento.

4.3.3.2 Índice de escurecimento

O índice de escurecimento (IE) foi determinado de acordo com Pen e Jiang (2003). De cada repetição, 10 tiras de folhas minimamente processadas foram avaliadas em relação ao seu escurecimento com base na proporção da área das folhas afetadas seguindo a escala de notas: 0= sem escurecimento, 1= surgimento de pontos de escuros (<1/5 da área total), 2=escurecimento moderado (entre 1/5 e 1/3 da área) e 3=escurecimento severo (área >1/2). O IE foi calculado pela fórmula: $IE = \sum (\text{nota de escurecimento} \times \text{porcentagem da área afetada correspondente à amostra})$. Amostras com IE maior que 2 foram consideradas não comercializáveis.

4.3.3.3 Análise de cor instrumental

A cor das folhas foi determinada pelos parâmetros Luminosidade (L), ângulo de cor Hue (°h) e cromaticidade (C), por meio de colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, Mahwah, New Jersey) com iluminante D-65 e geometria 45/0. Para cada repetição, uma

porção de escarola MP foi disposta em placa de Petri. O leitor do colorímetro foi posicionado em cima das folhas, sendo realizadas cinco leituras em pontos equidistantes em cada placa.

4.3.3.4 Teor de ácido ascórbico

O extrato para a análise foi preparado pela trituração de 30 g da escarola processada misturadas a 10 mL de água destilada. Essa mistura foi filtrada para a obtenção do extrato líquido. O teor de ácido ascórbico foi determinado através da titulação de uma alíquota de 10 mL do extrato de escarola diluídos em 50 mL de ácido oxálico (10%) com o indicador DCFI (2,6-diclorofenol indolfenol-sódio) até atingir a coloração rosada persistente por 15 segundos. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g de matéria fresca ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) (CARVALHO et al., 1990).

4.3.3.5 Clorofila e carotenoides totais

Para a quantificação dos pigmentos, 0,25 g de amostra triturada foram misturadas a uma solução de acetona 80%, sendo centrifugadas a $10.000 \times g$ por 10 minutos à 4°C . O sobrenadante foi usado para a medição dos pigmentos por meio de espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22) nos comprimentos de onda de 663, 646 e 470 nm para a determinação das clorofilas a, b e carotenoides respectivamente, a partir dos quais foram calculados os valores de clorofila e carotenoides totais, através das fórmulas descritas por Lichtentale (1987). Os resultados foram expressos em miligramas do pigmento por 100 gramas de matéria fresca ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$).

4.3.3.6 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados de acordo com a metodologia de Singleton e Rossi (1965), com adaptações. O extrato foi preparado pela trituração de 1 g da amostra, adicionadas em 9 mL de etanol e centrifugadas a $15.000 \times g$ a 4°C por 20 minutos. Para a leitura, foram misturados 0,3 mL do extrato vegetal com 0,75 mL de Folin-Ciocalteu 10%; 1,20 mL de água e 0,75 mL de carbonato de sódio 4%, que foram incubados no escuro por 2 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22) a 765 nm, em triplicatas. O cálculo dos compostos fenólicos totais foi realizado através da elaboração da curva padrão com ácido gálico. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de amostra fresca ($\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$).

4.3.3.7 Atividade da polifenoloxidase e peroxidase (PPO e POD)

O extrato utilizado para a leitura das enzimas foi obtido adaptando-se o método utilizado por Zhan et al. (2009), em que 0,5 g de escarola congelada foram trituradas e adicionadas a 12 mL de solução tampão fosfato de sódio de 50 mM (pH 7,0) (no gelo), sendo posteriormente centrifugadas a 20.000 x g por 20 minutos a 4°C.

As leituras das enzimas foram realizadas por espectrofotometria. Para a análise da atividade da polifenoloxidase (PPO; EC 1.10.3.2), seguiu-se a metodologia proposta por Degl'Innocenti et al. (2005) e modificada por Zhan et al. (2009). A análise foi realizada pela leitura a 480 nm de 0,1 mL do extrato enzimático incubados com 1,9 mL de catecol 25 mM, em cubetas de quartzo. Após um minuto da primeira leitura, foi realizada uma nova leitura. Considerou-se uma unidade enzimática de PPO, a diferença mínima de 0,001 na absorbância entre as leituras por minuto. Os resultados foram expressos como unidades de PPO por mg de proteína (U mg^{-1} proteína).

Para a leitura da atividade da peroxidase (POD; EC 1.11.1.7) seguiu-se as recomendações de Degl'Innocenti et al. (2005); a amostra continha 0,16 mL do extrato incubados com 0,004 mL de água destilada, 0,2 mL de peróxido de hidrogênio 35 mM e 1,6 mL de Guaiacol 10 mM. As leituras foram realizadas logo após a adição deste último e após 1 minuto, no comprimento de onda de 470 nm. Considerou-se uma unidade de POD, o aumento mínimo na absorbância de 0,001 por minuto. Os resultados foram expressos em μmol de guaiacol oxidados por minutos por mg de proteína ($\mu\text{mol guaiacol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína). A análise de proteína foi realizada segundo o método de Bradford (1976), utilizando albumina bovina como padrão.

4.3.3.8 Perda de massa

A perda de massa foi determinada pela diferença do peso inicial das amostras com os valores de peso obtidos a cada período de avaliação do experimento. Os resultados foram expressos em percentagem de perda de massa.

4.3.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x6, sendo quatro tratamentos e seis períodos de análise, incluindo o tempo zero (após o processamento). Foram utilizadas 3 repetições (uma embalagem por repetição) para as

análises físico-químicas, análises de gases e perda de massa, e triplicatas para as análises de pigmentos, atividade enzimática e compostos fenólicos.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$). Os dados também foram submetidos à análise de correlação de Pearson (r), onde foram consideradas correlações significativas entre as variáveis, valores $>0,700$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software estatístico Statistical Analysis System modelo 9.3 (SAS, 2011).

4.4 Resultados e Discussão

4.4.1 Concentração de gases no interior das embalagens

Verificou-se diferenças significativas ($p < 0,01$) entre as concentrações de O_2 (Figura 1) e CO_2 (Figura 2) formadas nas embalagens, atribuídas provavelmente às diferentes taxas de permeabilidade dos filmes aos gases. O decréscimo na percentagem de O_2 e, conseqüentemente, aumento na concentração de CO_2 , foram observados para a maioria dos filmes testados, com exceção do PVC que, por ser o mais permeável, pouco diferiu da sua concentração inicial (16 % O_2 e 3% CO_2). O teste de Tukey das concentrações de gases no interior das embalagens está exposto na tabela 1 do Anexo B.

Figura 1 - Concentração de oxigênio no interior de embalagens de escarola minimamente processada armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Figura 2 - Concentração de dióxido de carbono no interior de embalagens de escarola minimamente processada armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Os filmes PEBD e PP atingiram concentração de equilíbrio a partir do 4º dia, apresentando uma leve alteração no 20º dia, quando o produto apresentava alto grau de deterioração e maior taxa respiratória. Estas duas embalagens apresentaram valores médios de 12% de O_2 , enquanto o valor médio de CO_2 foi de 5% para PEBD e de 11% para o PP. A embalagem de BOPP proporcionou uma rápida e constante redução de O_2 , atingindo 4% no 20º dia, enquanto o teor de CO_2 alcançou e manteve valores médios de 21% a partir do 8º dia. Esta concentração de CO_2 promoveu odores indesejáveis no produto, sintoma também relatado em brócolis MP sob condições de alto CO_2 (>20%) na embalagem (LUCERA et al., 2011).

A análise de correlação de variáveis mostra que os dados de O_2 e CO_2 apresentam correlação negativa ($r=-0,895$), ou seja, as concentrações desses gases no interior das embalagens são inversamente proporcionais. Isso ocorre devido à alta taxa respiratória do vegetal, proveniente do processamento e sua interação com a permeabilidade aos gases de cada embalagem, que quanto maiores, proporcionam rápido decréscimo de O_2 e aumento de CO_2 (DEL NOBILE et al., 2008).

4.4.2 Índice de escurecimento e cor instrumental

O IE das folhas de escarola MP foi afetado apenas pelo o armazenamento de acordo com o teste F (Tabela 1). Houve aumento do escurecimento das folhas em todos os tratamentos a partir do 12º dia (Figura 3). As amostras embaladas nos filmes de PP e BOPP ultrapassaram o limite comerciável de escurecimento no último dia de armazenagem, mostrando pontos escurecidos em grande parte da área das folhas, provocados pelo alto teor de CO₂ no interior dessas embalagens. O escurecimento das amostras se encontra na Figura 1 do Anexo B, bem como o teste de Tukey das médias do IE estão na tabela 2 do mesmo Anexo.

Tabela 1 – Valor de F (ANOVA) do efeito dos diferentes filmes, tempo de armazenamento e interação destes sobre os aspectos fisiológicos, nutricionais e de qualidade da escarola minimamente processada armazenada a 0°C por 20 dias

Variável	Dia	Filme	Filme x Dia	C.V. (%)
Luminosidade	29,01**	5,43**	0,88*	3,19
Ângulo hue	4,03**	1,60*	1,96*	0,54
Cromaticidade	8,11**	2,79 ns	2,60**	3,81
Concentração de CO ₂ ²	11,62**	488,99**	6,20**	6,97
Concentração de O ₂	15,80**	147,15**	8,04**	9,19
Teor de ácido ascórbico ³	381,91**	54,70**	5,00**	2,94
Clorofila total ⁴	192,12**	23,38**	5,36**	2,32
Carotenoides totais ⁵	298,58**	52,12**	8,55**	1,01
Compostos fenólicos ⁶	345,81**	13,12**	5,99**	6,07
Índice de escurecimento ⁷	142,77**	2,10 ns	1,06 ns	14,86
Perda de massa ⁸	270,69**	49,87**	7,81**	0,84
Atividade da PPO	0,41 ns	0,68 ns	1,36 ns	35,60
Atividade da POD ⁹	8,03**	1,86**	2,88*	22,04

Os resultados foram obtidos da média de três repetições. **: $P \leq 0.01$; *: $P \leq 0.05$; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação. 1=dados transformados, valor de lambda: 2= $x^{-0.5}$; 3= $x^{0.5}$; 4= x^0 ; 5= x^0 ; 6= x^1 ; 7= x^2 ; 8= x^0 ; 9= x^0

Figura 3 - Índice de escurecimento de escarola minimamente processada embalada em diferentes filmes armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 20 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Altas concentrações de CO_2 no interior das embalagens podem causar desordens fisiológicas, como o surgimento de machas escuras e necrose dos tecidos (VAROQUAUX; WILEY, 1994). Este tipo de injúria causada por alta concentração de CO_2 ($>10\%$) já foi relatada para outros produtos MP, tais como alface manteiga (VAROQUAUX; MAZOLLIER; ALBAGNAC, 1996; MARTINEZ; ARES; LEMA, 2008), alface romana (KIM et al., 2005) e brócolis (CEFOLA et al., 2010).

A concentração de 16% de O_2 e 3% de CO_2 gerada pelo filme de PVC proporcionou o menor IE entre todos os filmes testados. Verificou-se a sensibilidade da escarola em concentrações de $\text{CO}_2 > 3\%$, considerando que as amostras dos filmes de PEBD (CO_2 entre 4 e 5%) também proporcionaram maior escurecimento nas folhas. A susceptibilidade ao dano por CO_2 na escarola MP, pode ser comparada a observada em alface manteiga MP, que exibiu manchas escuras na superfície e áreas de corte sob atmosfera de CO_2 entre 3 e 5% (MARTINEZ et al., 2008).

Embora alguns autores recomendem maior proporção de CO_2 em relação ao O_2 no interior das embalagens para a conservação da qualidade em folhosas MP (BARTH et al., 1993; BARRIGA et al., 1991; KAJI; UENO; OSAJIMA, 1993), o balanço desses gases deve ser considerado para evitar o risco de dano por CO_2 ou a indução de respiração anaeróbica. Em alface romana, pontos escuros podem surgir em atmosferas contendo alta concentração de CO_2 (7,5 kPa) e baixa de O_2 (0,5–2,0 kPa), porém estes sintomas podem ser evitados quando

a concentração de CO₂ é balanceada com altas concentrações de O₂ (>2,0 kPa) (KIM et al., 2005; LIPTON et al., 1987).

Houve diferenças significativas nos parâmetros de cor instrumental da escarola MP. A luminosidade (Figura 4) foi menor ($p<0,05$) para as folhas embaladas em PEBD e PP. Essas mesmas amostras apresentaram maior ($p<0,01$) cromaticidade durante o armazenamento (Figura 5). O ângulo hue (Figura 6) diferiu apenas no último dia do experimento, no qual as amostras embaladas em PVC apresentaram menor valor de L ($p<0,05$) que os demais tratamentos.

As alterações nesses parâmetros foram pequenas, influenciadas principalmente pelos períodos de armazenamento. Os valores médios de L, $^{\circ}h$ e C foram de 53,84; 119,89 e 34,46 respectivamente, indicando cor verde com brilho e saturação mediana. Os dados mostraram comportamento semelhante que em outros trabalhos, nos quais os parâmetros de cor em cultivares de alface minimamente processada sob diferentes embalagens pouco se alteraram durante o armazenamento (DEL NOBILE et al., 2006; MANOLOPOULOU et al., 2010).

Figura 4 – Luminosidade das folhas de escarola minimamente processada, embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95%, por 20 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Figura 5 - Cromaticidade em folhas de escarola minimamente processada, embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95%, por 20 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Figura 6 - Ângulo hue em folhas de escarola minimamente processada, embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 20 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

4.4.3 Teor de ácido ascórbico

As escarolas embaladas no filme de PVC mantiveram os maiores valores de ácido ascórbico (AA) na maior parte do armazenamento (Figura 7), diferindo ($p < 0,01$) dos demais filmes plásticos no 20º dia. O teor desse ácido decresceu gradualmente para todos os

tratamentos, com os menores valores obtidos para as amostras embaladas no BOPP. O filme de PVC proporcionou uma retenção de 50% de ácido ascórbico no último dia de análise, o BOPP manteve apenas 27% do valor inicial.

Figura 7 - Teor de ácido ascórbico (mg 100 g⁻¹ MF) em escarola minimamente processada, embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 20 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

A maior perda de AA foi verificada no BOPP se deve, provavelmente, ao dano causado por altas concentrações de CO₂ no interior dessa embalagem, que podem ter estimulado a atividade da enzima ascorbato peroxidase, a qual age oxidando o AA, convertendo-o em ácido dehidroascórbico (DHA) (LEE; KADER, 2000). Em vegetais folhosos, o CO₂ atua sobre a descompartimentalização desses ácidos nos cloroplastos (ASADA, 1992). O teor de AA em brócolis MP também diminuiu quando expostos a altas concentrações de CO₂ (10%) na embalagem (CEFOLA et al., 2010).

Houve correlação positiva entre o teor de AA e as variáveis de clorofila total, carotenoides totais e compostos fenólicos totais, equivalentes a $r=0,944$, $r=0,939$ e $r=0,893$ respectivamente, o que evidencia a forte influência que o AA possui sobre os parâmetros envolvidos com o escurecimento dos tecidos. Houve correlação negativa do AA com o índice de escurecimento ($r=-0,773$), indicando que quanto maior a degradação desse ácido, maior foi o índice de escurecimento. Isso ocorreu porque o AA atua protegendo os pigmentos contra as reações químicas e oxidativas, através de sua ação competitiva nas interações entre

amidas e carbonila-amina que resultam no escurecimento e, nesse processo o AA é convertido em ácido DHA (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2009).

O AA, juntamente com os carotenoides, possui ação antioxidante sobre a clorofila, reduzindo a oxidação de estruturas dos cloroplastos e mantendo a integridade das membranas (SCHWARTZ; VON ELBE, 1983; THOMPSON; LEGGE; BARBER, 1987). O AA também possui ação sinérgica com os compostos fenólicos, atuando como agente redutor e prevenindo a diminuição nos teores destes (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2008). Dessa forma, esses compostos podem reduzir a perda de pigmentos, refletindo na conservação da cor e menor escurecimento dos tecidos. A escarola apresentou teor inicial de AA de 25,9 mg 100 g⁻¹ MF, valores semelhantes aos obtidos por Koudela e Petříková (2007), valores entre 20,5 e 21,8 mg 100 g⁻¹ MF em três cultivares de escarola.

4.4.4 Clorofila e carotenoides totais

Os conteúdos de clorofila total (Figura 8) e carotenoides totais (Figura 9) na escarola MP diminuíram em todos os filmes, sendo que entre eles o PVC foi mais eficiente ($p < 0,01$) na conservação desses pigmentos na maior parte do armazenamento. Isso pode ser explicado pelas baixas concentrações de CO₂ nessas embalagens (<6%) e pela ação antioxidante do AA endógeno e dos carotenoides, cujos teores foram maiores nas folhas embaladas nesse filme.

Figura 8 - Clorofila total (mg 100 g⁻¹ MF) em escarola minimamente processada, embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 20 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Figura 9 - Carotenoides totais ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) em escarola minimamente processada, embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 20 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Os menores valores de clorofila foram registrados no PP e no BOPP devido, possivelmente, ao alto teor de CO_2 acumulado nesses filmes. Altas concentrações de CO_2 podem reduzir o pH intercelular, o que poderia afetar diretamente a degradação da clorofila. Em meio ácido, ocorre a feofitinação, processo que compreende a substituição do íon magnésio por íons de hidrogênio no grupo proteico da clorofila, convertendo-a em feofitina, que possui cor amarronzada, o que provoca o escurecimento dos tecidos (GUNAWAN; BARRINGER, 2000; KIRCA; YEMIS; OZKAN, 2006; TOIVONEN; BRUMMELL, 2008). Isso poderia explicar em parte, o maior escurecimento observado nas amostras embaladas no PP e BOPP.

Os valores iniciais de clorofila total e carotenoides totais foram de 40,2 e 4,49 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$ respectivamente. Conteúdos semelhantes de clorofila entre 43 e 53,3 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$ foram verificados por Koudela e Petříková (2007) em três cultivares de escarola, e teores superiores de carotenoides totais (11,9 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) foram verificados em espinafre (BUNEA et al., 2008)

4.4.5 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais (CFT) (Figura 10) diminuíram ao longo do armazenamento independentemente dos tratamentos, os quais diferiram significativamente

entre si ($p < 0,01$) apenas no 4º dia, com o maior valor observado nas escarolas embaladas em PVC, e no 20º dia, quando a escarola acondicionada nos filmes de PP e BOPP apresentaram maior conteúdo fenólico que os demais.

Figura 10 - Compostos fenólicos totais (mg equivalente ácido gálico 100 g⁻¹ MF) em escarola minimamente processada embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 20 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

O efeito da concentração de gases no teor de compostos fenólicos em folhosas minimamente processadas ainda não está elucidado. Embora seja conhecido que o teor de CFT aumente durante o armazenamento em alfaces MP, devido ao dano causado pelo corte (GIL; FERRERES; TOMÁS-BARBERAN, 1998; BELTRÁN et al., 2005; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ et al., 2011), o teor de gases pode influenciar na produção desses compostos.

A alface crespa teve seu teor de CFT reduzido quando exposta a 20% de CO₂, devido à diminuição da atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) (MATEOS et al., 1993). Por outro lado, concentrações baixas de O₂ (3%) em brócolis MP, mantiveram o conteúdo de CFT inalterados por 17 dias (CEFOLA et al., 2010).

Além da relação com o ácido ascórbico, foi observada correlação positiva entre os compostos fenólicos totais e os teores de clorofila ($r = 0,877$) e carotenoides totais ($r = 0,885$). Reyes, Villarreal e Cisneros-Zevallos (2007) verificaram que vegetais que possuem alto teor de AA (5-60 mg 100 g⁻¹) e conteúdo inicial de fenólicos totais entre 60 e 200 mg 100 g⁻¹, apresentam diminuição dos CFT após o corte e durante o armazenamento, como

observado em repolho. Isso pode explicar a diminuição do teor de CFT em todos os tratamentos na escarola.

Os valores iniciais de CFT foram de 164,3 mg EAG 100 g⁻¹ MF, semelhantes aos 158 mg EAG 100 g⁻¹ MF obtidos em rúcula minimamente processada por Koukounaras, Siomos e Sfakiotakis (2010).

4.4.6 Atividade da PPO e POD

A atividade da PPO não diferiu entre os tratamentos durante o armazenamento (Figura 11). A atividade da PPO nesse trabalho seguiu a mesma cinética que ocorre em alfaces minimamente processadas, as quais apresentam picos de atividade nas primeiras horas logo após o processamento e, em seguida diminuem e permanecem estáveis ao longo do armazenamento (DEGL'INNOCENTI et al., 2005; MATTOS; MORETTI; YOSINO DA SILVA, 2013).

Figura 11 - Atividade da enzima polifenoloxidase (U mg⁻¹ proteína) em escarola minimamente processada embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 20 dias. As barras representam a média de triplicatas. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,01$)

O valor médio da atividade da PPO foi de 0,27 U mg⁻¹ proteína. A atividade da PPO em folhosas minimamente processadas pode variar de acordo com o processamento e as condições do armazenamento. Valores da atividade da PPO em alface MP variaram entre 0 e 15 U mg⁻¹ durante o armazenamento refrigerado a 4°C (DEGL'INNOCENTI et al., 2005).

A atividade da POD (Figura 12) nas folhas de escarola MP apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os filmes durante o armazenamento. Os valores iniciais da atividade da POD foram de $0,37 \mu\text{mol guaiacol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, havendo picos na atividade dessa enzima nas folhas embaladas em PVC, PEBD e BOPP em diferentes períodos, sendo que, o maior foi observado para as amostras em BOPP no 20º dia ($0,81 \mu\text{mol guaiacol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína).

Figura 12 - Atividade da Peroxidase ($\mu\text{mol guaiacol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) em escarola minimamente processada embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 20 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

O pico de atividade da POD no 20º dia de armazenamento no BOPP pode ser explicado pelos altos níveis de CO_2 , a que as folhas estavam submetidas. A atividade da POD e da PPO estão relacionadas aos mecanismos de defesa do vegetal sob condições de estresse (SÁNCHEZ et al., 2000; ZHANG et al., 2006). Alguns autores relataram que a atividade da POD em diferentes cultivares de alface pode aumentar ou diminuir durante o armazenamento, em função da concentração de gases na embalagem (KE; SALTVEIT, 1989; MATTOS; MORETTI; YOSINO DA SILVA, 2013).

Considerando as variações durante o armazenamento, o valor médio da atividade da POD nas folhas de escarola MP durante o experimento foi de $0,40 \mu\text{mol guaiacol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína. Valores semelhantes aos obtidos nesse trabalho, foram observados em alface romana minimamente processada, variando entre 0,1 e $0,4 \mu\text{mol guaiacol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína (ZHAN et al., 2012).

As enzimas PPO e POD estão diretamente relacionadas ao escurecimento enzimático dos tecidos. A PPO catalisa difenóis a *o*-quinonas na presença de oxigênio. As quinonas então, se autopolimerizam em produtos melaninosos de pigmentação escura (MAYER, 1987). A POD possui o mesmo modo de ação no escurecimento, porém ao invés do oxigênio, ela usa o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) como substrato, o qual pode ser gerado durante a respiração ou como consequência do processamento (ROBINSON, 1991; AMIOT et al., 1997).

Neste trabalho não foram verificadas correlações significativas entre as enzimas, o teor de CFT e o IE, indicando que o escurecimento na escarola MP, pode ter sido não enzimático. Isso pode ter acontecido pela baixa atividade das enzimas, as quais não oxidaram compostos fenólicos suficientes para haver a formação de quinonas e posterior escurecimento. Em alguns trabalhos foi sugerido que a resistência ao escurecimento enzimático em folhosas MP pode estar associada ao alto teor de AA endógeno dessas hortaliças (DEGL'INNOCENTI et al., 2007; BOTTINO et al., 2009; LANDI et al., 2013).

O AA pode controlar a atividade das enzimas por dois mecanismos: reduzindo o pH do citosol das células ou através da redução das quinonas à suas formas precursoras de difenóis e, nesse processo o AA é convertido em ácido DHA (VÁMOS-VIGYAZO, 1981; NICOLAS et al., 1994). O teor de ácido DHA já foi correlacionado positivamente com o escurecimento em alface (HEIMDAL et al., 1995). Sabe-se que tecidos vegetais que possuem alto teor de AA são capazes de controlar de maneira efetiva o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o H_2O_2 (COCETTA et al., 2014; REYES; VILLARREAL; CISNEROS-ZEVALLOS, 2007).

Trabalhos anteriores mostraram que o conteúdo de fenólicos, o teor de AA e a atividade da PPO e da POD não mostraram correlação clara com o escurecimento em cultivares de alface MP (CANTOS; ESPÍN; TOMÁS-BARBERÁ, 2001; DEGL'INNOCENTI et al., 2005; DEGL'INNOCENTI et al., 2007).

Pode-se inferir então que a manutenção dos maiores teores de AA auxiliou na redução do escurecimento enzimático, hipótese que pode ser reforçada pela correlação negativa entre o AA e o índice de escurecimento ($r = -0,773$). Nesse sentido, há de se destacar o filme de PVC, que foi o mais eficiente na preservação do teor de AA e, devido a isso, proporcionou menor índice de escurecimento nas folhas.

4.4.7 Perda de massa

Os maiores valores de perda de massa (Figura 13) foram atingidos nas embalagens de PVC e PEBD que diferiram ($p < 0,01$) das demais a partir do 12º dia de armazenamento. Isso ocorreu devido a maior permeabilidade dessas embalagens ao vapor de água. No final do armazenamento, a perda de massa foi inferior a 1%. Para brócolis MP, o limite máximo de perda de massa é de 7% (MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2011).

Figura 13 - Perda de massa (%) em escarola minimamente processada embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 20 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

A perda de massa fresca é causada principalmente pela perda de água proveniente da transpiração do vegetal. Este fator, juntamente com a taxa de transmissão de vapor de água do filme e a temperatura de armazenamento, são os principais parâmetros que afetam a porcentagem da perda de massa (ARTES; MARTINEZ, 1999). Dados obtidos nesse trabalho foram semelhantes aos verificados por Manolopoulou et al. (2010) em alface romana minimamente processada, cujo valores de perda de massa atingiram 0,9% após 14 dias de armazenamento a 0°C.

4.5 Conclusão

Conclui-se que a embalagem de PVC, que promoveu concentrações de 16 % de oxigênio e 3% de dióxido de carbono, proporciona melhor conservação da qualidade visual e

nutricional da escarola minimamente processada por um período de 20 dias. A escarola minimamente processada apresenta sensibilidade à altas concentrações de CO₂.

Referências

- ALLENDE, A.; SELMA, M.V.; LOPEZ-GALVEZ, F.; VILLAESCUSA, R.; GIL, M.I. Impact of wash water quality on sensory and microbial quality, including *Escherichia coli* cross-contamination of fresh-cut escarole. **Journal of Food Protection**, Murcia, v. 71, n. 12, p. 2514-2518, 2008.
- ALTUNKAYA, A.; GÖKMEN, V. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). **Food Chemistry**, New York, v. 107, n. 3, p. 1173-1179, 2008.
- _____. Effect of various anti-browning agents on phenolic compounds profile of fresh lettuce (*L. sativa*). **Food Chemistry**, New York, v. 117, n. 1, p. 122-126, 2009.
- AMIOT, J.M.; FLEURIET, A.; VERONIQUE, C.; NICOLAS, J. Phenolic compounds and oxidative mechanism in fruit and vegetables. In TOMAS-BARBERAN, F.A.; ROBINS, R.J. **Phytochemistry of fruit and vegetables**: proceeding of the Phytochemical Society of Europe. Oxford: Claredon Press, 1997. p. 51-85.
- ARTES, F.; MARTINEZ, J.A. Quality of cauliflower as influenced by film wrapping during shipment. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 209, n. 5, p.330-334, 1999.
- ASADA, K. Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 85, n. 2, p. 235-241, 1992.
- AZEVEDO-MELEIRO, C.H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoids of endive and New Zealand spinach as affected by maturity, season and minimal processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, Paris, v. 18, n. 8, p. 845-855, 2005.
- BARRIGA, M.I.; TRACHY, G.; WILLEMOT, C.; SIMARD, R.E. Microbial changes in shredded iceberg lettuce stored under controlled atmospheres. **Journal of Food Science**, Belgium, v. 56, n. 6, p. 1586-1588, 1991.
- BARTH, M.M.; KERBEL, E.L.; BROUSSARD, S.; SCHMIDT, S.J. Modified atmosphere packaging protects market quality in broccoli spears under ambient-temperature storage. **Journal of Food Science**, Malden, v. 58, n. 5, p. 1070-1072, 1993.
- BELTRÁN, D.; SELMA, M.V.; MARIN, A.; GIL, M.I. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 53, n.14, p. 5654-5663, 2005.
- BENNIK, M.H.J.; PEPPELENBOS, H.W.; NGUYENTHE, C.; CARLIN, F.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M. Microbiology of minimally processed, modified-atmosphere packaged chicory endive. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 209-221, 1996.

BOTTINO, A.; DEGL'INNOCENTI, E.; GUIDI, L.; GRAZIANI, G.; FOGLIANO, V. Bioactive compounds during storage of fresh-cut spinach: the role of endogenous ascorbic acid in the improvement of product quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 57, n. 7, p. 2925-2931, 2009.

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

BUNEA, A.; ANDJELKOVIC, M.; SOCACIU, C.; BOBIS, O.; NEACSU, M.; VERHÉ, R.; CAMP, J.V. Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.). **Food Chemistry**, New York, v. 108, n. 2, p. 649–656, 2008.

CANTOS, E.; ESPÍN, J.C.; TOMÁS-BARBERÁ, F.A. Effect of wounding on phenolic enzymes in six minimally processed lettuce cultivars upon storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 49, n. 1, p. 322–330, 2001.

CANTOS, E.; TUDELA, J.A.; GIL, M.I.; ESPÍN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v.50, p.3015-3023, 2002.

CARLIN, F.; NGUYENTHE, C.; MORRIS, C. E. Influence of background microflora on *Listeria monocytogenes* on minimally processed fresh broad-leaved endive (*Cichorium endivia* var *latifolia*). **Journal of Food Protection**, Domaine, v. 59, n. 7, p. 698-703, 1996.

CARVALHO, B.A. **Conheça melhor as hortaliças**. Campo Grande: EMPAER, 1988. 71 p. (Documentos, 17).

CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N; MORAES, R.M. **Análises químicas: manual técnico**. Campinas: ITAL, 1990. 121 p.

CEFOLA, M.; AMODIO, M.L.; CORNACCHIA, R.; RINALDI, R.; VANADIA, S.; COLELLI, G. Effect of atmosphere composition on the quality of ready-to-use broccoli raab (*Brassica rapa* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 90, p. 789–797, 2010.

CHINSIRIKUL, W.; KLINTHAM, P.; KERDDONFAG, N.; WINOTAPUN, C.; HARARAK, B.; KUMSANG, P.; CHONHENCHOB, V. Porous ultrahigh gas-permeable polypropylene film and application in controlling in-pack atmosphere for asparagus. **Packaging Technology and Science**, Weinheim, v. 27, n. 4, p. 313-325, 2014.

COCETTA, G.; BALDASSARRE, V.; SPINARDI, A.; FERRANTE, A. Effect of cutting on ascorbic acid oxidation and recycling in fresh-cut baby spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 88, p. 8-16, 2014.

COZZOLINO, R.; MARTIGNETTI, A.; PELLICANO, M. P.; STOCCHERO, M.; CEFOLA, M.; PACE, B.; DE GIULIO, B. Characterization of volatile profile and sensory analysis of fresh-cut "Radicchio di Chioggia" stored in air or modified atmosphere. **Food Chemistry**, New York, v. 192, n. 1, p. 603-611, 2016.

DEGL'INNOCENTI, E.; GUIDI, L.; PARDOSSI, A.; TOGNONI, F. Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *acephala*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 53, n. 26, p. 9980-9984, 2005.

DEGL'INNOCENTI, E.; PARDOSSI, A.; TOGNONI, F.; GUIDI, L. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarole' and 'rocket salad' when stored as fresh-cut products. **Food Chemistry**, New York, v. 104, n. 1, p. 209-215, 2007.

DEL NOBILE, M. A.; BAIANO, A.; BENEDETTO, A.; MASSIGNAN, L. Respiration rate of minimally processed lettuce as affected by packaging. **Journal of Food Engineering**, Ayrlesley, v. 74, n. 1, p. 60-69. 2006.

DEL NOBILE, M.A.; SINIGAGLIA, M.; CONTE, A.; SPERANZA, B.; SCROCCO, C.; BRESCIA, I.; ANTONACCI, D. Influence of postharvest treatments and film permeability on quality decay kinetics of minimally processed grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 47, n. 3, p. 389-396, 2008.

ESTURK, O.; AYHAN, Z.; GOKKURT, T. Production and application of active packaging film with ethylene adsorber to increase the shelf life of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). **Packaging Technology and Science**, Weinheim, v. 27, n. 3, p. 179-191, 2014.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003. 412 p.

GIL, M.I.; FERRERES, F.; TOMAS-BARBERAN, F.A. Effect of modified atmosphere packaging on the flavonoids and vitamin C content of minimally processed Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 46, n. 5, p. 2007-2012, 1998.

GUNAWAN, M.I.; BARRINGER, S.A. Green color degradation of blanched broccoli (*Brassica oleracea*) due to acid and microbial growth. **Journal of Food Processing Preservation**, Bari, v. 24, p. 253-263, 2000.

HEIMDAL, H.; KU, H.N.B.F.; POLL, L.; LARSEN, L.M. Biochemical changes and sensory quality of shredded and MA-packaged Iceberg lettuce. **Journal of Food Science**, Malden, v. 60, p. 1265-1276, 1995.

HODGES, D.M.; TOIVONEN, P.M.A. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 155-162, 2008.

JIANG, Y.; JOYCE, D.C.; TERRY, L.A. Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 23, n. 3, p. 227-232, 2001.

KAJI, H.; UENO, M.; OSAJIMA, Y. Storage of shredded cabbage under a dynamically controlled-atmosphere of high O_2 and high CO_2 . **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 57, n. 7, p. 1049-1052, 1993.

KE, D.; SALTVEIT, M.E. Carbon dioxide-induced brown stain development as related to phenolic metabolism in iceberg lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Davis, v. 114, n. 5, p. 789-794, 1989.

KIM, J.G.; LUO, Y.G.; TAO, Y.; SAFTNER, R.A.; GROSS, K.. Effect of initial oxygen concentration and film oxygen transmission rate on the quality of fresh-cut romaine lettuce. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Weinheim, v. 85, n. 10, p. 1622-1630, 2005.

KIRCA, A.; YEMIS, O.; OZKAN, M. Chlorophyll and colour changes in grapevine leaves preserved by passive modification. **Europeana Food Research and Technology**, Çanakkale, v. 223, p. 387–393, 2006.

KOUDELA, M.; PETŘÍKOVÁ, K., Nutritional composition and yield of endive cultivars: *Cichorium endivia* L. **Horticultural Science**, London, v. 34, n. 1, p. 6-10, 2007.

KOUKOUNARAS, A.; SIOMOS, A.S.; SFAKIOTAKIS, E. Effects of degree of cutting and storage on atmosphere composition, metabolic activity and quality of rocket leaves under modified atmosphere packaging. **Journal of Food Quality**, Malden, v. 33, p. 303-316, 2010.

LANDI, M.; DEGL'INNOCENTI, E.; GUGLIELMINETTI, L.; GUIDI, L. Role of ascorbic acid in the inhibition of polyphenoloxidase and the prevention of browning in different browning-sensitive *Lactuca sativa* var. capitata (L.) and *Eruca sativa* (Mill.) stored as fresh-cut produce. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 93, n. 8, p. 1814-1819, 2013.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, n. 3, p. 207–220, 2000.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, Davis, v. 148, p. 350-382, 1987.

LIPTON, W.J. Carbon dioxide-induced injury of romaine lettuce stored in controlled atmospheres. **Hortscience**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 461-463, 1987.

LUCERA, A.; COSTA, C.; MASTROMATTEO, M.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M.A. Fresh-cut broccoli florets shelf-life as affected by packaging film mass transport properties. **Journal of Food Engineering**, Ayrsey, v. 102, n. 2, p. 122-129, 2011.

MANOLOPOULOU, E.; VARZAKAS, T. Effect of storage conditions on the sensory quality, colour and texture of fresh-cut minimally processed cabbage with the addition of ascorbic acid, citric acid and calcium chloride. **Food and Nutrition Sciences**, Bologna, v. 2, n. 1, p. 956-963, 2011.

MANOLOPOULOU, H.; LAMBRINOS, G.; CHATZIS, E.; XANTHOPOULOS, G.; ARAVANTINOS, E. Effect of temperature and modified atmosphere packaging on storage quality of fresh-cut romaine lettuce. **Journal of Food Quality**, Malden, v. 33, p. 317-336, 2010.

- MANTILLA, S.P.S.; MANO, S.B.; VITAL, H.C.; FRANCO, R.B. Atmosfera modificada na conservação de alimentos. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 437-448, 2010.
- MARTINEZ, I.; ARES, G.; LEMA, P. Influence of cut and packaging film on sensory quality of fresh-cut butterhead lettuce (*Lactuca sativa* L., CV. Wang). **Journal of Food Quality**, Malden, v. 31, n. 1, p.48-66, 2008.
- MARTINEZ-SANCHEZ, A.; TUDELA, J.A.; LUNA, C.; ALLENDE, A.; GIL, M.I. Low oxygen levels and light exposure affect quality of fresh-cut Romaine lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 59, n. 1, p. 34-42, 2011.
- MASCHERPA, D.; CARAZZONE, C.; MARRUBINI, G.; GAZZANI, G.; PAPETTI, A. Identification of phenolic constituents in *Cichorium endivia* Var. *crispum* and Var. *latifolium* salads by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 60, n. 49, p. 12142-12150, 2012.
- MATEOS, M.; KE, D.; CANTWELL, M.; KADER, A.A. Phenolic metabolism and ethanolic fermentation of intact and cut lettuce exposed to CO₂-enriched atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 3, n. 3, p. 225-233, 1993.
- MATTOS, L.M.; MORETTI, C.L.; YOSINO DA SILVA, E.Y. Effects of modified atmosphere packaging on quality attributes and physiological responses of fresh-cut crisphead lettuce. **Cyta-Journal of Food**, Compostela, v. 11, n.4, p.392-397, 2013.
- MAYER, A.M. Polyphenoloxidases in plants - recent progress. **Phytochemistry**, Washington, v. 26, n. 1, p. 11-20, 1987.
- NICOLAS, J.J.; RICHARDFORGET, F.C.; GOUPY, P.M.; AMIOT, M.J.; AUBERT, S.Y. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Toronto, v. 34, n. 2, p. 109-157, 1994.
- OLIVEIRA, M.; ABADIAS, M.; USALL, J.; TORRES, R.; TEIXIDO, N.; VINAS, I. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables - A review. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v. 46, n. 1, p. 13-26, 2015.
- PEN, L.T.; JIANG, Y. M. Effects of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut Chinese water chestnut. **Lwt-Food Science and Technology**, Georgia, v. 36, n. 3, p. 359–364, 2003.
- POUBOL, J.; IZUMI, H. Shelf life and microbial quality of fresh-cut mango cubes stored in high CO₂ atmospheres. **Journal of Food Science**, Malden, v. 70, p. 69-74, 2005.
- 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**, New York, v. 101, n. 3, p. 1254–1262, 2007.

ROBINSON, D.S. Peroxidases and their significance in fruits and vegetables. In: FOX, P.F. **Food enzymology**. London: Elsevier, 1991. p. 399-426.

SÁNCHEZ, E.; SOTO, J. M.; GARCIA, P.C.; LOPEZ-LEFEBRE, L.R.; RIVERO, R.M.; RUIZ, J.M.; ROMERO, L. Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 27, n. 10, p. 973-978, 2000.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L. Embalagem. In: CENCI, S.A. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagens**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. cap. 4, p. 59-70.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT 9.3: user's guide**. Cary, 2011. 8621 p.

SCHWARTZ, S.J.; VON ELBE, J.H. Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables. **Journal of Food Science**, Belgium, v. 48, n. 4, p. 1303-1306, 1983.

SINGLETON, V.L., ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p. 144-158, 1965.

THOMPSON, J.E.; LEGGE, R.L.; BARBER, R.F. Tansley review 8: the role of free-radicals in senescence and wounding. **New Phytologist**, Lancaster, v. 105, n. 3, p. 317-344. 1987.

TIVERON, A.P.; MELO, P.S.; BERGAMASCHI, K.B.; VIEIRA, T.M.F.S.; REGITANO-D'ARCE; M.A.B.; ALENCAR, S.M. Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 13, n. 7, p. 8943-8957. 2012.

TOIVONEN, P.M.A.; BRUMMELL, D.A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 48, n. 1, p. 1-14, 2008.

VÁMOS-VIGYAZO, L. Polyphenoloxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Toronto, v. 15, n. 1, p. 49-127, 1981.

VAROQUAUX, P.; MAZOLLIER, J.; ALBAGNAC, G. The influence of raw material characteristics on the storage life of fresh-cut butter head lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 127-139, 1996.

VAROQUAUX, P.; WILEY, R.C. Biological and biochemical changes in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: WILEY, R.C. **Minimally processed refrigerated fruits & vegetables**. New York: Chapman & Hall, 1994. chap. 6, p. 226-268.

WULFKUEHLER, S.; KURFISS, L.; KAMMERER, D.R.; WEISS, A.; SCHMIDT, H.; CARLE, R. Impact of different washing procedures on quality of fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* var. capitata L.) and endive (*Cichorium endivia* L.). **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 236, n. 2, p. 229-241, 2013.

ZHAN, L.; HU, J.; LI, Y.; PANG, L. Combination of light exposure and low temperature in preserving quality and extending shelf-life of fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* L.).

Postharvest Biology and Technology, Amsterdam, v. 72, p. 76-81, 2012.

ZHAN, L.J.; FONTANA, E.; TIBALDI, G.; NICOLA, S. Qualitative and physiological response of minimally processed garden cress (*Lepidium sativum* L.) to harvest handling and storage conditions. **Journal of Food Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 7, n. 3, p. 43-50, 2009.

ZHANG, L.K.; LU, Z.X.; LU, F.X.; BIE, X.M. Effect of gamma irradiation on quality-maintaining of fresh-cut lettuce. **Food Control**, Amsterdam, v. 17, n. 3, p. 225-228, 2006.

5 QUALIDADE DA ESCAROLA MINIMAMENTE PROCESSADA TRATADA COM ANTIOXIDANTES

Resumo

A escarola possui compostos bioativos e alto valor nutricional e, devido ao seu preparo trabalhoso, mostra potencial para o processamento mínimo. Porém, esses produtos perdem sua qualidade durante o armazenamento, sendo que o uso de antioxidantes é uma técnica eficiente para amenizar essas perdas. Objetivou-se avaliar a aplicação de antioxidantes sobre a qualidade da escarola minimamente processada. Os seguintes antioxidantes foram testados: ácido ascórbico 1%, ácido cítrico 1%, ácido oxálico 1% e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 2%. Foram analisados: concentrações de O₂ e CO₂ na embalagem, perda de massa, L, C, °h e índice de escurecimento, os teores de ácido ascórbico, clorofila, carotenoides e compostos fenólicos totais, a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase e análises microbiológicas de *Salmonella*, coliformes totais e bactérias psicrótroficas durante o armazenamento a 0°C e 90-95% UR por 21 dias. Com base nos dados analisados, verificou-se a aplicação de ácido cítrico a 1% conservou os maiores teores de pigmentos e de ácido ascórbico, proporcionou baixos valores de perda de massa e índice de escurecimento das folhas, bem como manteve o desenvolvimento microbiológico dentro dos limites estabelecidos durante o armazenamento. Os compostos fenólicos totais e a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase nas amostras mostraram oscilações nos tratamentos, entre os dias de armazenamento. O ácido cítrico 1% é o antioxidante mais indicado para conservação dos atributos de qualidade da escarola minimamente processada por período de 21 dias em armazenamento refrigerado a 0°C.

Palavras-chave: *Cichorium endivia* var. *latifolia* L.; Escurecimento enzimático; Compostos fenólicos; Clorofila; Ácido ascórbico

Abstract

Escarole has bioactive compounds and high nutritional value. Because of its laborious preparation, it shows potential as minimally processed product. However, these products lose their quality during storage, but the use of antioxidants treatments is an effective technique to mitigate these losses. This research aimed to evaluate the application of antioxidants on quality of fresh cut escarole. The following antioxidants were tested: 1% ascorbic acid 1%, citric acid 1%, oxalic acid 1%, and ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) 2%. Were analyzed: O₂ and CO₂ concentrations inside the packages, weight loss, L, C, °h and browning index, the levels of ascorbic acid, chlorophyll, carotenoids and total phenolics, the activity of polyphenoloxidase and peroxidase enzymes and microbiological analysis of *Salmonella*, total coliforms and psychrotrophic bacteria counts during the storage at 0° C and 90-95% RH for 21 days. The citric acid 1% treatment maintained the highest levels of ascorbic acid and pigments, as well as provided low values of weight loss and browning index, also provided microbiological development within the limits established during storage. Total phenolics compounds and the activity of polyphenoloxidase and peroxidase enzymes in the samples showed variations between treatments during storage. The citric acid 1% is the best antioxidant for the maintenance of the quality attributes of fresh cut escarole for 21 days in cold storage at 0°C.

Keywords: *Cichorium endivia* var. *latifolia* L.; Enzymatic browning; Phenolic compounds; Chlorophyll; Ascorbic acid

5.1 Introdução

A escarola (*Cichorium endivia* var. *latifolia* L.) é uma hortaliça folhosa de grande valor nutricional, constituindo uma fonte rica em vitaminas, minerais e compostos antioxidantes, que previnem doenças degenerativas (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2005; MASCHERPA et al., 2012; TIVERON et al., 2012). Essa hortaliça, juntamente com a alface, são os vegetais folhosos mais consumidos em saladas (LLORACH et al., 2008) e, devido a suas propriedades e alta demanda por alimentos saudáveis e de fácil preparo ou prontos para o consumo, caracteriza-se como hortaliça ideal para o mercado de produtos minimamente processados.

Os produtos minimamente processados (MP) consistem em frutos ou vegetais que foram submetidos a uma série de procedimentos envolvendo seleção, lavagem, corte e/ou descasque, embalagem e outros; proporcionando aos consumidores, alimentos prontos para o consumo ou preparo (GOYENECHE et al., 2014). Este é um dos segmentos que mais cresce no setor alimentar devido à grande procura por alimentos saudáveis e convenientes (COZZOLINO et al., 2016).

Entretanto, as etapas do processamento como o corte e descasque causam danos físicos e alterações fisiológicas nos vegetais. A perda de compartimentalização celular resultante do corte favorece o contato de enzimas com seus substratos, resultando em alterações bioquímicas relacionadas à perda de qualidade, tais como o desenvolvimento de odores desagradáveis (*off-flavours*) e o escurecimento enzimático (MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2011). Além desses sintomas, os produtos MP possuem metabolismo acelerado, com alta taxa respiratória, perda de firmeza e nutrientes, e desenvolvimento de possíveis microrganismos patogênicos (HERNÁNDEZ et al., 2014).

Para prolongar a vida útil dos produtos MP, técnicas auxiliares têm sido utilizadas em conjunto com baixas temperaturas, dentre as quais destacam-se o uso de atmosfera modificada e controlada, antioxidantes, irradiação, recobrimentos comestíveis, tratamentos térmicos, entre outros (KLUGE et al., 2014; HERNÁNDEZ et al., 2014). Dentre essas técnicas, a aplicação de antioxidantes é uma das mais eficientes e utilizadas (OMS-OLIU et al., 2010; SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2010; KLUGE et al., 2014; CEFOLA; PACE, 2015).

O uso de antioxidantes consiste na imersão do produto em soluções contendo ácidos orgânicos ou sais minerais de forma isolada ou em combinações (HERNÁNDEZ et al., 2014). Os ácidos orgânicos mais utilizados são os ácidos ascórbico, cítrico, salicílico, oxálico e o etilenodiamino-tetracético (EDTA). Eles atuam diminuindo a taxa respiratória dos vegetais,

inibindo a ação de enzimas que causam o escurecimento, a perda de nutrientes e pigmentos, além de que, alguns possuem efeito antimicrobiano (IHL et al., 2003; AKBAS; OLMEZ, 2007; SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2010; KLUGE et al., 2014; CEFOLA; PACE, 2015).

O ácido ascórbico é um agente antiescurecimento redutor; ele atua reduzindo *o*-quinonas geradas pela ação da enzima polifenoloxidase (PPO) à suas formas precursoras, impedindo a formação de substâncias escuras (HE; LUO, 2007). O ácido cítrico inibe a ação da PPO através de seu efeito quelante; ele age complexando com o cobre no sítio ativo dessa enzima ou através da diminuição do pH do meio; esse ácido também atua sinergicamente com o ácido ascórbico (FU et al., 1999; PINELI, 2004).

A aplicação de ácido cítrico foi o melhor tratamento para a preservação da cor e da qualidade sensorial em repolho MP (MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2011). Em pimentão amarelo MP, o ácido ascórbico foi o melhor antioxidante para a conservação da qualidade, redução da taxa respiratória e manutenção do teor de vitamina C (KLUGE et al., 2014).

O ácido oxálico, assim como o ácido cítrico, apresenta inibição da PPO através de sua ação quelante com cobre. O ácido oxálico foi relatado como um potente antioxidante que, além de diminuir a respiração, manter pigmentos, também preserva os compostos antioxidantes como o ácido ascórbico (AKBIYIK et al., 2012; ZHENG et al., 2007; RUÍZ-JIMÉNEZ et al., 2014). Este ácido aplicado em folhas de espinafre bebê e rúcula MP, proporcionou menor degradação da clorofila, mantendo a integridade e preservando a cor das folhas, além de retardar o crescimento microbiano (CEFOLA et al., 2015).

O EDTA apresenta inibição da oxidação catalítica do cobre do ácido ascórbico, funcionando como um estabilizante de vitaminas e de pigmentos (MADHAVI; DESHPANDE; SALUNKHE, 1995). Este ácido possui ação antiescurecimento através de sua função quelante com íons de cobre e ferro (PINELI, 2004). O uso de EDTA foi eficiente na redução do escurecimento interno de quiabo MP (JESUS et al., 2008). Em couve chinesa MP, o EDTA promoveu maior conservação do ácido ascórbico, menor perda de massa e melhores nota de aparência geral, além de menor escurecimento (EVANGELISTA et al., 2009).

5.2 Objetivo

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de tratamentos com antioxidantes sobre as características de qualidade da escarola minimamente processada, observando os aspectos visuais, fisiológicos, bioquímicos, nutricionais e microbiológicos.

5.3 Material e Métodos

5.3.1 Obtenção da matéria-prima

Cabeças de escarola cultivar Amazonas Gigante foram obtidas de cultivo convencional em Tanquinho, zona rural de Piracicaba, São Paulo, Brasil (22°34'00" de latitude Sul, 47°36'16" de longitude Oeste, e altitude de 609 m). As cabeças foram colhidas 68 dias após a semeadura durante a safra de inverno, no mês de setembro de 2015, sendo transportadas para laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita da Universidade de São Paulo, ESALQ – Piracicaba, com um intervalo menor que 1 hora. As cabeças foram armazenadas em câmara fria a 15°C e 90-95% UR por 1 dia para a retirada do calor de campo, sendo processadas no dia seguinte.

5.3.2 Instalação do experimento

As cabeças foram uniformizadas em relação à cor, tamanho e ausência de danos mecânicos e causados por pragas. As cabeças selecionadas foram cortadas para a separação das folhas, as quais foram lavadas com água corrente para a retirada de sujidades, passaram por nova seleção e foram levadas para câmara fria a 15°C, onde o processamento ocorreu. Todo o ambiente, bem como os equipamentos e materiais tinham sido previamente higienizados e desinfetados.

As folhas inteiras, incluindo as mais tenras, foram sanitizadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio (200 mg L⁻¹) a 5°C, durante 10 minutos. Após a sanitização, as folhas foram cortadas manualmente em tiras com largura aproximada de 3 cm com o auxílio de facas de aço inoxidável. As folhas fatiadas foram então imersas nas seguintes soluções por 5 minutos: (Controle – sem a aplicação de antioxidante), Ácido ascórbico 1%, Ácido cítrico 1%, Ácido oxálico 1% e Ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 2%. As concentrações

das soluções antioxidantes foram escolhidas baseando-se nos melhores resultados obtidos em produtos MP citados na literatura (EVANGELISTA et al., 2009; JESUS et al., 2008; MELO; VILAS BOAS, 2006; KLUGE et al., 2014; SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2010).

Após a aplicação dos tratamentos, as folhas cortadas foram centrifugadas por 1,5 minutos em centrífuga doméstica (Arno, São Paulo, SP, Brasil) com velocidade angular média de 760 x g para a retirada do excesso de água. Em seguida, 150 g das folhas foram embaladas em filme plástico de PVC 14 µm sobre bandejas de poliestireno expandido (21 x 14,5 x 1,5 cm), as quais foram termo-seladas no fundo das bandejas. Todas as amostras foram armazenadas em câmara fria a 0°C e 90-95% UR por 21 dias. As análises foram realizadas no dia 0, logo após o processamento e depois seguindo intervalos de 3 dias até o 21º dia do experimento.

5.3.3 Análises realizadas

5.3.3.1 Concentração de gases no interior das embalagens

As concentrações de gases no espaço interior das embalagens foram monitoradas a cada 3 dias durante 21 dias de armazenamento refrigerado utilizando um analisador de gases CheckMate 9900 O₂/CO₂ PBI Dansensor (Minneapolis, MN, USA). As amostras de gases foram tomadas através de uma seringa (agulha hipodérmica) acoplada por septos de silicone previamente fixados em embalagens individuais. Os resultados foram expressos em porcentagem de CO₂ e O₂. Para o dia 0, as concentrações de gases no interior das embalagens foram realizadas após 1 hora do processamento.

5.3.3.2 Índice de escurecimento

O índice de escurecimento (IE) foi determinado de acordo com Pen e Jiang (2003). De cada repetição, 10 tiras de folhas minimamente processadas foram avaliadas em relação ao seu escurecimento com base na proporção da área das folhas afetadas seguindo a escala de notas: 0= sem escurecimento, 1= surgimento de pontos de escuros (<1/5 da área total), 2=escurecimento moderado (entre 1/5 e 1/3 da área) e 3=escurecimento severo (área >1/2). O IE foi calculado pela fórmula: I.E. = Σ (nota de escurecimento × porcentagem da área afetada correspondente à amostra). Amostras com IE maior que 2 foram consideradas não comercializáveis.

5.3.3.3 Análise de cor instrumental

A cor das folhas foi determinada pelos parâmetros Luminosidade (L), ângulo de cor Hue (°h) e cromaticidade (C), por meio de colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, Mahwah, New Jersey) com iluminante D-65 e geometria 45/0. Para cada repetição, uma porção de escarola MP foi disposta em placa de Petri. O leitor do colorímetro foi posicionado em cima das folhas, sendo realizadas cinco leituras em pontos equidistantes em cada placa.

5.3.3.4 Clorofila e carotenoides totais

Para a quantificação dos pigmentos, 0,25 g de amostra triturada foram misturadas a uma solução de acetona 80%, sendo centrifugadas a 10.000 x g por 10 minutos à 4°C. O sobrenadante foi usado para a medição dos pigmentos por meio de espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22) nos comprimentos de onda de 663, 646 e 470 nm para a determinação das clorofilas a, b e carotenoides respectivamente, a partir dos quais foram calculados os valores de clorofila e carotenoides totais, através das fórmulas descritas por Lichtentale (1987). Os resultados foram expressos em miligramas do pigmento por 100 gramas de matéria fresca (mg 100 g⁻¹ MF).

5.3.3.5 Perda de massa

A perda de massa foi determinada pela diferença do peso inicial das amostras com os valores de peso obtidos a cada período de avaliação do experimento. Os resultados foram expressos em porcentagem.

5.3.3.6 Análises microbiológicas

Foram realizadas análises referentes a presença ou ausência de *Salmonella* no início do experimento e contagem de microrganismos psicrotróficos e Coliformes totais durante os períodos de avaliação do experimento. A detecção de *Salmonella* em 25g do produto foi realizada conforme a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), legislação vigente (ANVISA, 2001).

A contagem de microrganismos psicrotróficos nas amostras foi realizada de acordo com Cousin, Jay e Vasavadaet (2001). Uma alíquota de 25 g de amostra foi homogeneizada com

225 mL de água peptonada esterilizada (H₂O_p), obtendo-se a 1ª diluição. A partir da transferência de 1 mL da 1ª diluição para tubo contendo 9 mL de H₂O_p, foi obtida a 2ª diluição, e assim sucessivamente. Uma alíquota de 0,1 mL de cada uma das diluições foi semeada na superfície de placas de Petri contendo Plate Count Agar (PCA) com auxílio de uma alça de Drigalsky. As placas foram incubadas a 7°C durante 10 dias. Após esse período, foi realizada a contagem das colônias com auxílio de um contador de placas. Os resultados foram expressos em log UFC por grama de amostra (log UFC g⁻¹).

A contagem de Coliformes totais foi realizada através de kit Simplate Coliform (Biocontrol Systems®), metodologia validada pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) Official Method 2005.03. Uma alíquota de 50 g de amostra foi homogeneizada com 450 mL de água peptonada esterilizada (H₂O_p), obtendo-se a 1ª diluição. A partir da transferência de 1 mL da 1ª diluição para tubo contendo 9 mL de H₂O_p, foi obtida a 2ª diluição, e assim sucessivamente. Uma alíquota de 1 mL de cada uma das diluições foi semeada em placa Simplate (Biocontrol Systems®), seguido da adição de reagente do kit. As placas foram incubadas a 35°C durante 24 horas. Após esse período, foi realizada a contagem das placas e os resultados avaliados de acordo com a Tabela de Conversão de Contagem de Número mais provável de colônias (Simplat®). Os resultados foram expressos em log NMP por grama de amostra (log NMP g⁻¹).

Como ainda não existem recomendações para as quantidades máximas de coliformes totais e microrganismos psicrotróficos presentes em produtos minimamente processados no Brasil, neste trabalho, tomou-se por base o valor de 10⁷ log UFC g⁻¹ de amostra, como limite de segurança. Este valor é o padrão internacional utilizado por países europeus (AKBAS; OLMEZ, 2007; LUCERA; CONTE; DEL NOBILE, 2012; DANZA et al., 2015).

5.3.3.7 Teor de ácido ascórbico

O extrato para a análise foi preparado pela trituração de 30 g da escarola processada misturadas a 10 mL de água destilada. Essa mistura foi filtrada para a obtenção do extrato líquido. O teor de ácido ascórbico foi determinado através da titulação de uma alíquota de 10 mL do extrato de escarola diluídos em 50 mL de ácido oxálico (10%) com o indicador DCFI (2,6-diclorofenol indolfenol-sódio) até atingir a coloração rosada persistente por 15 segundos. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g de matéria fresca (mg 100 g⁻¹ MF) (CARVALHO et al., 1990).

5.3.3.8 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados de acordo com a metodologia de Singleton e Rossi (1965), com adaptações. O extrato foi preparado pela trituração de 1 g da amostra, adicionadas em 9 mL de etanol e centrifugadas a 15.000 x g a 4°C por 20 minutos. Para a leitura, foram misturados 0,3 mL do extrato vegetal com 0,75 mL de Folin-Ciocalteu 10%; 1,20 mL de água e 0,75 mL de carbonato de sódio 4%, que foram incubados no escuro por 2 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22) a 765 nm, em triplicatas. O cálculo dos compostos fenólicos totais foi realizado através da elaboração da curva padrão com ácido gálico. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de amostra fresca (mg EAG 100 g⁻¹ MF).

5.3.3.9 Atividade das enzimas PPO e POD

O extrato utilizado para a leitura das enzimas foi obtido adaptando-se o método utilizado por Zhan et al. (2009), em que 0,5 g de escarola congelada foram trituradas e adicionadas a 12 mL de solução tampão fosfato de sódio de 50 mM (pH 7,0) (no gelo), sendo posteriormente centrifugadas a 20.000 x g por 20 minutos a 4°C.

As leituras das enzimas foram realizadas por espectrofotometria. Para a análise da atividade da polifenoloxidase (PPO; EC 1.10.3.2), seguiu-se a metodologia proposta por Degl'Innocenti et al. (2005) e modificada por Zhan et al. (2009). A análise foi realizada pela leitura de 0,1 mL do extrato enzimático incubados com 1,9 mL de catecol 25 mM, em cubetas de quartzo a 480 nm. Após um minuto da primeira leitura, foi realizada uma nova leitura. Considerou-se uma unidade enzimática de PPO, a diferença mínima de 0,001 na absorbância entre as leituras por minuto. Os resultados foram expressos como unidades de PPO por mg de proteína por minuto (U mg⁻¹ proteína).

Para a leitura da atividade da peroxidase (POD; EC 1.11.1.7) seguiu-se as recomendações de Degl'Innocenti et al. (2005); a amostra continha 0,16 mL do extrato incubados com 0,004 mL de água destilada, 0,2 mL de peróxido de hidrogênio 35 mM e 1,6 mL de Guaiacol 10 mM. As leituras foram realizadas logo após a adição deste último e após 1 minuto, no comprimento de onda de 470 nm. Considerou-se uma unidade de POD, o aumento mínimo na absorbância de 0,001 por minuto. Os resultados foram expressos em µmol de guaiacol oxidados por minutos por mg de proteína (µmol guaiacol min⁻¹ mg⁻¹ proteína). A

análise de proteína foi realizada segundo o método de Bradford (1976), utilizando albumina bovina como padrão.

5.3.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x8, sendo cinco tratamentos e oito períodos de análise, incluindo o tempo zero (após o processamento). Foram utilizadas 3 repetições para as análises físico-químicas e fisiológicas e, triplicatas para as análises bioquímicas.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$). Os dados também foram submetidos à análise de correlação de Pearson (r), onde foram consideradas correlações significativas entre as variáveis, valores $\geq 0,700$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software estatístico Statistical Analysis System modelo 9.3 (SAS, 2011).

5.4 Resultados e Discussão

5.4.1 Concentração de gases na embalagem

Houve diferenças nas concentrações de gases no interior das embalagens entre os tratamentos nos níveis de 5 e 1% de significância, para as concentrações de O_2 (Figura 1) e de CO_2 (Figura 2), respectivamente, durante o armazenamento. Os tratamentos AO e EDTA foram descartadas no 18º dia de armazenamento por terem ultrapassado o limite comercial de escurecimento (Figura 3). Esses tratamentos apresentaram as menores concentrações de CO_2 ($p < 0,01$) a partir do 12º dia e, as maiores concentrações de O_2 ($p < 0,05$) durante todo o armazenamento, mantendo valores médios de 20,1 e 19,7%, respectivamente para o AO e EDTA. O teste de Tukey para as concentrações de gases na embalagem está exposto na tabela 1 do Anexo C.

Figura 1 - Concentração de oxigênio no interior de embalagens de escarola minimamente processada tratadas com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 21 dias. CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetraacético 2%. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

Figura 2 - Concentração de dióxido de carbono no interior de embalagens de escarola minimamente processada tratadas com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 21 dias. CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetraacético 2%. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=3$)

As amostras tratadas com ácido ascórbico (AA) apresentaram a menor ($p<0,05$) concentração de O_2 (17,6%) até o 21º dia, período no qual não houve diferenças significativas em relação aos demais tratamentos. O tratamento AA e o CT mantiveram os maiores valores ($p<0,01$) de CO_2 até o 21º dia, quando estes não diferiram entre si e com o tratamento com

ácido cítrico (AC). Os valores médios de CO₂ durante o armazenamento para as amostras CT, AA e AC foram de 2,4, 2,7 e 1,4% respectivamente.

As amostras imersas em AC apresentaram redução nas concentrações de CO₂ dentro das embalagens, com valores semelhantes aos tratamentos AO e EDTA. O AC pode diminuir a respiração dos vegetais através de reações no citosol. Ao reduzir a atividade da fosfofrutoquinase, diminui a glicólise e o ritmo do metabolismo respiratório. A diminuição da glicólise também pode estar associada a redução do pH do citosol pela ação do AC (KATO-NOGUCHI; WATADA, 1997). A redução da respiração pela aplicação de AC já foi relatada em diversos produtos MP (KATO-NOGUCHI; WATADA, 1997; VITTI et al., 2003; KLUGE et al., 2010, 2014).

A redução da taxa respiratória pela aplicação de AO está associada à diminuição da atividade metabólica causada pela sua aplicação, conforme relatado em rúcula e em espinafre MP (CEFOLA; PACE, 2015). O efeito do EDTA sobre a taxa respiratória não está totalmente elucidado, porém este tratamento poderia ter reduzido a respiração da escarola MP, através de sua ação quelante sobre os lipídeos, inibindo a sua oxidação (AZEREDO; BRITO; GARRUTI, 2012; CHAIYASIT et al., 2007).

As porcentagens de O₂ e CO₂ no interior das embalagens da escarola MP obtidas nesse trabalho diferem das obtidas por outros autores, os quais não verificaram influência da aplicação de ácidos orgânicos sobre as concentrações de gases no interior das embalagens de folhosas minimamente processadas (AKBAS; OLMEZ, 2007; MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2014).

5.4.2 Índice de escurecimento e cor

Os tratamentos CT, AA e AC apresentaram índice de escurecimento (IE) dentro do limite aceitável até o 21º dia, quando não foram observadas diferenças significativas entre eles (Figura 3). O escurecimento nas folhas está exposto na figura 1 do Anexo C, bem como o teste de Tukey da análise do IE está apresentado na tabela 2 do mesmo Anexo.

Figura 3 - Índice de escurecimento de escarola minimamente processada tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 21 dias. CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%. Barras verticais representam o desvio padrão da média ($n=3$)

Houve acréscimo no IE das folhas da escarola MP nos tratamentos AO e EDTA a partir do 9º dia, os quais foram descartados no 18º dia, por terem ultrapassado o limite comercial de escurecimento. Isso pode ter ocorrido em função das concentrações de O_2 no interior das embalagens desses tratamentos, as quais atingiram valores próximos aos contidas no ar atmosférico (20,9%), o que poderia ter acelerado os processos metabólicos, fazendo com estas amostras se deteriorassem mais rapidamente.

Pode-se comparar o efeito do O_2 nas amostras AO e EDTA com o mesmo já relatado em cultivares de alface MP, que ao serem mantidas a 5°C, ultrapassam o limite de qualidade visual para a comercialização no 12º dia de armazenamento, sendo caracterizadas pelos sintomas de escurecimento severo nas superfícies e áreas de corte das folhas (LOPEZ-GALVEZ; SALTVEIT; CANTWELL, 1996).

As alterações na cor são responsáveis pela deterioração da aparência em produtos MP. Entre diversos fatores que causam essas mudanças, os principais são o escurecimento enzimático e a degradação de pigmentos (IHL et al., 2003). Observou-se correlação negativa entre o IE e o teor de clorofila total ($r=-0,707$), indicando que quanto maior foi o IE, menor foi o teor de clorofila. Observou-se também correlações positivas do IE com a perda de massa ($r=0,772$) e o desenvolvimento das bactérias psicrotróficas ($r=0,726$), sugerindo que o escurecimento também ocorreu em função do aumento nesses parâmetros.

Não houve interação entre os dias de análise e os tratamentos nos parâmetros de cor da escarola MP, porém, o L e o C foram afetadas pelos dias, sendo que o L também foi influenciado pelos tratamentos (Tabela 1). O teste de Tukey para as médias dessas variáveis está contido na tabela 3 do Anexo C.

Tabela 1 – Valor de F (ANOVA) do efeito da aplicação de antioxidantes, tempo de armazenamento e interação destes sobre os aspectos fisiológicos, nutricionais e de qualidade da escarola minimamente processada armazenada a 0°C por 20 dias

Variável	Dia	Tratamento	Tratamento x Dia	C.V. (%)
Concentração de O ₂ ¹	6,12**	84,75**	1,78*	1,41
Concentração de CO ₂ ²	32,24**	92,59**	2,54**	10,83
Índice de escurecimento ³	560,99 **	149,18**	36,16**	6,22
Luminosidade	4,88 **	2,81 *	1,19 ns	5,4
Cromaticidade ⁴	5,32 **	1,09 ns	1,76 ns	2,03
Ângulo hue	1,52 ns	1,49 ns	1,29 ns	5,23
Teor de ácido ascórbico	116,23**	65,67**	1,83*	6,23
Clorofila total	1636,6**	172,97**	27,64**	3,11
Carotenoides totais ⁵	978,94**	128,01**	27,25**	3,86
Compostos fenólicos ⁶	210,31**	74,82**	27,43**	4,49
Perda de massa	97,66 **	16,78**	2,49**	5,55
Atividade da PPO ⁷	64,39**	33,44**	5,59**	19,95
Atividade da POD ⁸	88,19**	19,10**	3,20**	6,6

Os resultados foram obtidos da média de três repetições. **: $P \leq 0.01$; *: $P \leq 0.05$; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação. 1=dados transformados, valor de lambda: x^3 ; 2= $x^{0.5}$; 3= x^{-3} ; 4= x^{-3} ; 5= x^0 ; 6= x^{-1} ; 7= x^0 ; 8= $x^{0.5}$

Os valores de L variaram de acordo com os períodos de avaliação (Figura 4), sendo que entre os tratamentos, esta variável diferiu apenas entre os tratamentos AA e EDTA. A C* (Figura 5) também apresentou pequenas variações, com menores valores registrados nos 6°, 15° e 18° dias de análise. O °h (Figura 6) não apresentou diferenças significativas durante o armazenamento. Os valores médios da L, °h e C foram de 51,8, 119,4 e 34,3 respectivamente, indicando cor verde com intensidade mediana.

Figura 4 – Luminosidade em folhas de escarola minimamente processada, tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

Figura 5 – Cromaticidade em folhas de escarola minimamente processada, tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

Figura 6 – Ângulo hue em folhas de escarola minimamente processada, tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

Os dados instrumentais de cor em hortaliças folhosas geralmente podem apresentar variações devido à desuniformidade na cor das folhas (MANOLOPOULOU et al., 2010). O comportamento nos dados de cor neste trabalho foi semelhante aos observados por autores, que verificaram que a aplicação de soluções antioxidantes não influenciou os parâmetros de cor em folhas de alface MP durante o armazenamento (AKBAS; OLMEZ, 2007; IHL et al., 2003).

5.4.3 Clorofila e carotenoides totais

O AC foi o tratamento mais eficiente na retenção dos teores de clorofila (Figura 7) e carotenoides totais (Figura 8), apresentando os maiores valores ($p < 0,01$) desses pigmentos durante o armazenamento, seguidos das amostras tratadas com AA. Houve correlação positiva entre o teor de AA da escarola MP e as variáveis de clorofila e carotenoides totais, correspondentes a $r=0,872$ e $r=0,866$, respectivamente.

Figura 7 - Clorofila total ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) em escarola minimamente processada, tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

Figura 8 - Carotenoides totais ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) em escarola minimamente processada, tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

A perda de clorofila está associada ao escurecimento dos tecidos, como observado pela correlação negativa entre essa variável e o IE. A feofitinação e a atividade da enzima clorofilase são os principais processos responsáveis pela degradação da clorofila. A

feofitinação ocorre quando o tecido está em meio ácido, exposto a altas temperaturas ou em armazenamento muito prolongado. O processo consiste na substituição do íon magnésio por dois íons de hidrogênio no grupo proteico da clorofila, gerando feofitinas de cor amarronzada. Já a clorofilase separa o fitol da porfirina, resultando em clorofilídeos e feoforbídeos menos estáveis (KIRCA; YEMIS; OZKAN, 2006).

O AC e o AA apresentam mecanismo de ação semelhantes contra deterioração dos pigmentos, reduzindo reações químicas e bioquímicas que oxidam as estruturas do cloroplasto (THOMPSON; LEGGE; BARBER, 1987). A aplicação do AC exógeno age sinergicamente com o teor de AA endógeno dos tecidos. Considerando-se que o ácido cítrico controla a PPO, ocorre menor demanda no consumo do ácido ascórbico, o qual acaba sendo utilizado para outros fins, como em sua ação competitiva nas reações enzimáticas que resultam em compostos escuros, prevenindo assim, a perda de cor e de pigmentos (PINELLI, 2004; ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2009; ANSORENA et al., 2014).

Em alguns trabalhos foi demonstrada a eficiência da utilização do AC em conjunto com outras técnicas na retenção da clorofila em folhosas MP (IHL et al., 2003; ANSORENA et al., 2014). Os valores de clorofila total na escarola foram semelhantes aos encontrados em rúcula e espinafre bebê (40-50 mg 100 g⁻¹) (CEFOLA et al., 2015). Os teores de carotenoides obtidos foram inferiores aos registrados em alface-da-terra, equivalentes a 2,0 mg 100 g⁻¹ (FERRANTE; MARTINETTI; MAGGIORE, 2009).

5.4.4 Perda de massa

A perda de massa (PM) (Figura 9) foi maior ($p < 0,01$) para os tratamentos AO e EDTA, os quais atingiram porcentagens de 0,66 e 0,59%, respectivamente, no 15º dia. Os outros tratamentos não diferiram entre si no restante do armazenamento. Os valores de PM não atingiram 1%, faixa muito abaixo do limite permitido de PM para folhosas MP, como em brócolis, que pode ser de até 7% (MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2011).

Figura 9 - Perda de massa (%) em escarola minimamente processada tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

A PM é um processo natural que pode ser atribuída principalmente à transpiração dos vegetais, mas também a outros aspectos, relacionados ao metabolismo (respiração) e a senescência dos tecidos durante o armazenamento (WATADA; QI, 1999). A maior PM nas amostras AO e EDTA podem ser explicadas possivelmente devido à maior concentração de O_2 contida no interior das embalagens desses tratamentos, o que poderia ter acelerado o processo de respiração e senescência dessas amostras.

Verificou-se ampla influência da PM sobre as demais variáveis da qualidade da escarola, visto a sua correlação positiva com o índice de escurecimento ($r=0,772$) e, correlações negativas com os parâmetros teor de ácido ascórbico ($r=-0,800$), teor de clorofila total ($r=-0,888$) e carotenoides totais ($r=-0,887$).

A PM possui alta correlação com vários fatores de qualidade em frutas e vegetais, tais como a aparência, textura e valor nutricional. Quando a PM aumenta, simultaneamente ocorre redução na firmeza e aumento do murchamento e escurecimento dos tecidos e, quando em grau muito alto, a perda de água poderia romper a parede celular, o que causaria a descompartimentalização e consequentemente, o contato da enzima ascorbato oxidase com o ácido ascórbico, diminuindo assim, o teor desse ácido (NUNES, 2015; PROULX et al., 2010).

Os valores de PM neste trabalho foram inferiores aos obtidos em trabalhos que utilizaram tratamentos com ácidos orgânicos em folhosas MP, os quais variaram entre 0,5-4,2% (EVANGELISTA et al., 2009; MANOLOPOULOU; VARZAKAS, 2011). Evangelista

et al. (2009) observaram que o tratamento com AA 2% proporcionou menor perda de massa em couve-chinesa MP do que os tratamentos com AC, EDTA e cloreto de cálcio.

5.4.5 Análises microbiológicas

Não foi constatada a presença de *Salmonella* em 25 g da escarola MP, estando em conformidade como a RDC 12 da ANVISA (BRASIL, 2001). Para as análises de coliformes totais (Figura 10) e bactérias psicrotróficas (Figura 11) durante o armazenamento, verificou-se que em ambas, os valores não ultrapassaram o limite permitido (10^7 log UFC g⁻¹), independentemente do tratamento. Os resultados também indicaram a ausência de coliformes fecais nas amostras.

Figura 10 - Coliformes totais (log NMP g⁻¹) em folhas de escarola minimamente processada tratada com diferentes antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. CT: Controle; AA: Ácido ascórbico 1%; AC: Ácido cítrico 1%; AO: Ácido Oxálico 1%; EDTA: Ácido etilenodiamino tetraacético 2%

Figura 11 - Bactérias psicrotróficas (log UFC g⁻¹) em folhas de escarola minimamente processada tratada com diferentes antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. CT: Controle; AA: Ácido ascórbico 1%; AC: Ácido cítrico 1%; AO: Ácido Oxálico 1%; EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

Os coliformes totais nos tratamentos AO e EDTA apresentaram maiores valores que os demais a partir do 12º dia. Isto pode ter ocorrido provavelmente, devido às concentrações de gases nessas embalagens, as quais favorecem o desenvolvimento desses microrganismos. Os demais tratamentos permaneceram com valores semelhantes até o fim do armazenamento.

As bactérias psicrotróficas apresentaram crescimento constante com valores próximos entre os tratamentos durante todo o armazenamento. Devido ao alto teor de nutrientes que a escarola possui, caracterizando-se como um excelente substrato para o crescimento microbiano. Observou-se correlação negativa entre o teor de ácido ascórbico e crescimento de bactérias psicrotróficas ($r=-0,821$).

Os valores dos microrganismos nesse trabalho, bem como a tendência do desenvolvimento desses, foram semelhantes aos obtidos por Akbas e Olmez (2007) ao testarem a eficiência de ácidos orgânicos como sanificantes em alface americana MP. Esses autores verificaram que a imersão das folhas em AC e ácido láctico foram os tratamentos mais eficazes na redução e controle de microrganismos psicrotróficos e mesófilos por 12 dias a 4°C.

Tem sido relatado que os ácidos cítrico e ascórbico, além de possuírem efeito antiescurecimento, possuem função redutora da população microbiana em produtos MP (IHL et al., 2003; PIAGENTITNI; GÜEMES; PIROVANI, 2003; AKBAS; OLMEZ, 2007; ANSORENA et al., 2014). O mecanismo de inibição de microrganismos por estes ácidos

ocorre principalmente, pela redução do pH externo dos tecidos para valores que não permitam o seu desenvolvimento (IHL et al., 2003).

5.4.6 Teor de ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico (Figura 12) decresceu em todos os tratamentos durante o armazenamento. Os tratamentos AA e AC demonstraram maior retenção ($p < 0,01$) dos teores de ácido ascórbico que os demais durante o armazenamento. Os tratamentos AO e EDTA apresentaram valores de ácido ascórbico semelhantes aos do controle.

Figura 12 - Teor de ácido ascórbico ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) em escarola minimamente processada, tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

A degradação do ácido ascórbico ocorre principalmente devido a atividade da enzima ascorbato oxidase, que age oxidando o AA em ácido dehidroascórbico (DHA), este processo oxidativo pode ser acelerado pelo processamento mínimo, como acontece em alface MP, quando sofre o corte e exposição a oxigênio (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2009).

Tanto o AA quanto o AC agem sinergicamente, atuando como antioxidante e no aumento e preservação do ácido ascórbico (PINELLI, 2004). Em diversos trabalhos tem sido relatado o incremento e maior conservação do ácido ascórbico endógeno em produtos MP tratados com AA, conforme verificado em couve chinesa, rabanete e pimentões amarelos (EVANGELISTA et al., 2009; DEL AGUILA et al., 2008; KLUGE et al., 2014).

A escarola apresenta teor de ácido ascórbico relativamente alto quando comparada com cultivares de alface, que podem variar entre 1,5 e 12,3 mg 100 g⁻¹ MF (LLORACH et al., 2008). Os valores de ácido ascórbico neste trabalho variaram entre 23,2 e 13,6 mg 100 g⁻¹ MF durante o armazenamento. Valores semelhantes foram obtidos por Koudela e Petříková (2007), que verificaram valores entre 20,5 e 21,8 mg 100 g⁻¹ MF em nas cultivares de escarola Maral, Malan e Nuance.

5.4.7 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais (CFT) (Figura 13) apresentaram variações entre os dias de armazenamento, sendo que até o 9º dia, os maiores valores ($p < 0,01$) foram registrados pelas amostras imersas em EDTA e, nos períodos finais do experimento, as amostras controle e as tratadas em AA e AC apresentaram os maiores valores, sendo que no 21º dia de análise, as amostras controle diferiram significativamente dessas duas.

Figura 13 - Compostos fenólicos totais (mg equivalente ácido gálico 100 g⁻¹ MF) em escarola minimamente processada tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

A aplicação de agentes antioxidantes em produtos MP pode aumentar ou diminuir os CFT, dependendo do agente e de sua concentração (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2008; ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2009). O EDTA é um agente complexante e quelante (SAPERS,

1993) e, devido a essas propriedades, pode ter conservado os maiores valores de CFT até o 9º dia de armazenamento. A oscilação do conteúdo de CFT durante o armazenamento, entre outros fatores, pode ser explicada pela conversão de fenóis livres e ligados a outros compostos, tais como quinonas (FERRANTE; MARTINETTI; MAGGIORE, 2009).

Em estudo realizado com a aplicação de agentes antiescurecimento em alface MP foi observado que o AA foi mais eficiente na redução da perda e oxidação dos compostos fenólicos que a aplicação de AC, AO e cisteína (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2011).

A ação protetora do AA pode ser atribuída às reações de redução e regeneração dos polifenóis; enquanto que os AC e AO reduzem a oxidação dos fenólicos devido a sua função acidificante e quelante sobre as enzimas que degradam esses compostos (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2011; KAYASHIMA; KATAYAMA, 2002). Os teores de CFT nas amostras variaram entre 48 a 117 mg EAG 100 g⁻¹ MF, valores semelhantes aos obtidos por Tiveron et al. (2012) em diversas hortaliças folhosas.

5.4.8 Atividade das enzimas PPO e POD

Houve variações na atividade da PPO (Figura 14) durante o armazenamento. Observou-se diferenças ($p < 0,01$) entre os tratamentos a partir do 6º dia de análise, no qual, as folhas tratadas com AO e EDTA apresentaram menor atividade dessa enzima. No 12º e 15º períodos de análise, a menor atividade da PPO foi verificada para as amostras AC e EDTA. No último dia de avaliação, o AC apresentou menor atividade que o AA e o controle.

Figura 14 - Atividade da enzima polifenoloxidase (U mg^{-1} proteína) em escarola minimamente processada tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

A PPO é uma enzima oxidoreductase que contém cobre em seu sítio ativo e, que na presença de oxigênio, catalisa a hidroxilação de monofenóis em *o*-difenois, os quais são oxidados posteriormente em *o*-quinonas. Estas por sua vez são polimerizadas ou podem ser combinadas com compostos amida e carbonila-amina ou ainda, reagir com aminoácidos ou proteínas, formando assim, compostos escuros de baixo peso molecular (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2008; ZAWISTOWSKI; BILIADERIS; ESKIN, 1991).

O EDTA, bem como os AC e AO são agentes quelantes e atuam na inibição da PPO por complexarem com o cobre no sítio ativo dessa enzima (SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2010; SAPERS, 1993). A eficácia e os mecanismos de atuação dos diferentes agentes antioxidantes dependem do cultivar e da espécie vegetal, uma vez que a PPO pode utilizar diferentes compostos fenólicos como substratos (SUTTIRAK; MANURAKCHINAKORN, 2010).

Houve picos na atividade da POD (Figura 15) nas folhas da escarola MP tratadas com antioxidantes durante o armazenamento. Na maioria dos períodos avaliados, a atividade da POD foi maior ($p < 0,01$) nas amostras CT até o 18º dia, no qual estas não diferiram dos tratamentos com a aplicação de AA e AC até o fim do experimento.

Figura 15 - Atividade da Peroxidase ($\mu\text{mol guaiacol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{proteína}$) em escarola minimamente tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR, por 21 dias. As colunas representam a média de 3 repetições. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia de armazenamento, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

A POD na presença de H_2O_2 age no escurecimento através da oxidação de compostos fenólicos doadores de hidrogênio (RICHARD-FORGET; GAUILLARD, 1997; ROBINSON, 1991). Ao serem oxidados, os fenólicos geram compostos escuros no tecido. Entre os agentes que controlam a atividade da POD estão os ácidos AA e AC. Eles reduzem o pH do meio diminuindo a atividade enzimática. Porém, essa redução depende do agente utilizado e do valor do pH da solução, sendo este último, fator decisivo na eficiência da inibição (LANDI et al., 2013).

Em alguns trabalhos foi demonstrado que o AA tem efeito inibitório temporário, pois não atua diretamente sobre a enzima; ele reduz as *o*-quinonas em suas formas precursoras de difenóis e, nesse processo, o AA é convertido em ácido DHA (ALTUNKAYA; GÖKMEN, 2008; NICOLAS et al., 1994). O AC além de reduzir o pH, possui função quelante, agindo diretamente sobre as enzimas (SON; MOON; LEE, 2000).

A função da POD no escurecimento ainda não está totalmente esclarecida (LANDI et al., 2013; OMS-OLIUA et al., 2010). A ação dessa enzima é discutida devido ao fato de que os níveis de H_2O_2 nos tecidos vegetais são muito baixos, não sendo capazes de gerar condições para sua atividade (RICHARD-FORGET; GAUILLARD, 1997; CANTOS et al., 2002). Por outro lado, parece haver uma relação sinérgica entre a PPO e a POD. Há a hipótese que a formação das quinonas geradas pela reação da PPO pode levar ao acúmulo de níveis

significativos de H_2O_2 , os quais poderiam permitir a oxidação de polifenóis pela POD, visto que o H_2O_2 serve como substrato para essa enzima no processo de escurecimento (JIANG; MILES, 1993; SUBRAMANIAN et al., 1999).

Existem controvérsias em relação ao envolvimento dos compostos fenólicos e a atividade das enzimas no escurecimento de produtos MP. Em estudos sobre o mecanismo bioquímico do escurecimento enzimático em folhosas MP tem sido relatado o possível envolvimento do alto teor ácido ascórbico endógeno, como agente antiescurecedor natural (DEGL'INNOCENTI et al., 2007; BOTTINO et al., 2009; LANDI et al., 2013).

A degradação do ácido ascórbico pode estar relacionada com o escurecimento não enzimático, devido a sua oxidação em ácido DHA. O ácido DHA pode, posteriormente, reagir na condensação da via aldol ou com grupos amina, que são responsáveis pela condensação das quinonas em compostos escuros nos tecidos (SAPERS; HICKS; MILLER, 2001). Os níveis do ácido DHA já foram correlacionados positivamente com o escurecimento em alface (HEIMDAL et al., 1995).

Vegetais que possuem alto teor de AA em seus tecidos são capazes de controlar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) de modo eficaz. O AA é mais eficiente contra a ação das EROs do que os compostos fenólicos, os quais controlam apenas parte da EROs formadas, visto que quando esses compostos são sintetizados após a etapa de corte em vegetais MP, eles são destinados a outras funções (REYES; VILLARREAL; CISNEROS-ZEVALLOS, 2007). O AA tem sido relatado como um sequestrante eficiente do H_2O_2 produzido durante o estresse oxidativo (COCETTA et al., 2014; SHIGEOKA et al., 2002).

Ferrante et al. (2004) mostraram que o tratamento com AC em acelga, chicória e rúcula MP não é necessário para manter a cor desses produtos, afirmando ainda que estas hortaliças não apresentaram escurecimento enzimático, provavelmente, devido à quantidade adequada de compostos antioxidantes que essas hortaliças possuem e, também pela manutenção dos teores de compostos fenólicos durante o armazenamento.

Em alguns trabalhos foi reportado que não há relação clara entre o conteúdo de fenólicos, o teor de AA e a atividade da PPO e da POD com o escurecimento das folhas em diferentes cultivares de alface MP (CANTOS; ESPÍN; TOMÁS-BARBERÁ, 2001; DEGL'INNOCENTI et al., 2005; DEGL'INNOCENTI et al., 2007). No presente trabalho, estas relações também não foram observadas.

O escurecimento observado na escarola MP neste trabalho pode ter sido não enzimático, estando relacionado à degradação da clorofila, ao desenvolvimento microbiano e à perda de massa fresca. Essa hipótese é reforçada pela correlação negativa entre o teor de

clorofila e o IE ($r=-0,707$), bem como as correlações positivas observadas desse último com a perda de massa ($r=0,772$) e o crescimento das bactérias psicrotróficas ($r=0,726$).

A PM apresentou correlação negativa com o teor de clorofila total ($r=-0,888$) e com o AA ($r=-0,800$), indicando que à medida que a perda de água nos tecidos aumentava, o teor de clorofila e AA diminuía, o que poderia ser explicado provavelmente, pelo rompimento das membranas dos tecidos devido ao murchamento, favorecendo assim, a atividade das enzimas clorofilase e ascorbato oxidase.

O consumo do AA pelo crescimento microbiano, também poderia estar relacionado ao escurecimento, considerando que houve correlação negativa entre o teor de AA e a contagem de bactérias psicrotróficas ($r=-0,821$). O escurecimento das folhas de escarola MP, portanto, aparenta estar relacionado também à degradação do teor de AA, visto os diversos mecanismos antiescurecimento desse ácido. Partindo-se disso, o maior escurecimento nas amostras tratadas com AO e EDTA teria ocorrido em função da maior perda de massa e da degradação da clorofila e do AA dessas amostras.

A atividade da PPO na escarola variou entre 0,10 e 0,90 U mg^{-1} proteína, caracterizada como muito baixa, quando comparada aos valores obtidos em cultivares de alface, que podem variar entre 14 e 28 U mg^{-1} proteína (ZHAN et al., 2012). A atividade da POD variou de 0,47 a 3,13 μmol guaiacol min^{-1} mg^{-1} proteína, valores superiores aos 0,24 e 0,33 μmol guaiacol min^{-1} mg^{-1} proteína obtidos por Altunkaya e Gökmen (2011) em alface e, aos 0,10 e 0,35 μmol guaiacol min^{-1} mg^{-1} proteína verificados por Zhan et al. (2012) em alface romana MP.

5.5 Conclusão

Com base nos dados apresentados, pode-se afirmar que o ácido cítrico 1% é o antioxidante mais indicado para conservação dos atributos de qualidade da escarola minimamente processada por período de 21 dias em armazenamento refrigerado a 0°C. Este tratamento manteve baixo índice de escurecimento, os maiores teores de clorofila, carotenoides e de ácido ascórbico, bem como proporcionou baixos valores de perda de massa e de desenvolvimento microbiológico.

Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC número 12 de 02 de Janeiro de 2001: regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, Brasília, 04 jan. 2001.
- AKBAS, M.Y.; OLMEZ, H. Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Weinheim, v. 87, n. 14, p. 2609-2616, 2007.
- AKBIYIK, T.; SÖNMEZOG˘LU, I.; GÜÇLÜ, K.; TOR, I.; APAK, R. Protection of ascorbic acid from copper (II) – catalyzed oxidative degradation in the presence of fruit acids: Citric, oxalic, tartaric, malic, malonic, and fumaric acids. **International Journal of Food Properties**, Muscat, v. 15, p. 398–41, 2012.
- ALTUNKAYA, A.; GÖKMEN, V. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). **Food Chemistry**, New York, v. 107, n. 3, p. 1173-1179, 2008.
- _____. Effect of various anti-browning agents on phenolic compounds profile of fresh lettuce (*L. sativa*). **Food Chemistry**, New York, v. 117, n. 1, p. 122-126, 2009.
- _____. Purification and characterization of polyphenoloxidase, peroxidase and lipoxygenase from freshly cut lettuce (*L. sativa*). **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 49, n. 2, p. 249-256, 2011.
- ANSORENA, R.M.; MOREIRA, R.M.; ROURA, S.I. Combined effect of ultrasound, mild heat shock and citric acid to retain greenness, nutritional and microbiological quality of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L.): an optimization study. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 1-13, 2014.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL. **Rapid test kits**. 2005. Disponível em: <<http://www.aoac.org/testkits/kits-microbiology.htm>>. Acesso em: 12 set. 2015.
- AZEREDO, H.M.C.; BRITO, E.S.; GARRUTI, D.S. Alterações químicas em alimentos durante a estocagem. In: AZEREDO, H.M.C. **Fundamentos de estabilidade de Alimentos**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA, 2012. p. 39-75.
- AZEVEDO-MELEIRO, C.H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoids of endive and New Zealand spinach as affected by maturity, season and minimal processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, Paris, v. 18, n. 8, p. 845-855, 2005.
- BOTTINO, A.; DEGL'INNOCENTI, E.; GUIDI, L.; GRAZIANI, G.; FOGLIANO, V. Bioactive compounds during storage of fresh-cut spinach: the role of endogenous ascorbic acid in the improvement of product quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 57, n. 7, p. 2925-2931, 2009.

CANTOS, E.; ESPÍN, J.C.; TOMÁS-BARBERÁ, F.A. Effect of wounding on phenolic enzymes in six minimally processed lettuce cultivars upon storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 49, n. 1, p. 322–330, 2001.

CANTOS, E.; TUDELA, J.A.; GIL, M.I.; ESPÍN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v.50, p.3015-3023, 2002.

CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R M. **Análises químicas: manual técnico**. Campinas: ITAL, 1990. 121 p.

CEFOLA, M.; PACE, B. Application of oxalic acid to preserve the overall quality of rocket and baby spinach leaves during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, Bari, v. 39, n. 6, p. 2523-2532, 2015.

CHAIYASIT, W.; ELIAS, R.J.; MCCLEMENTS, D.J.; DECKER, E.A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Toronto, v. 47, n. 3, p. 299-317, 2007.

COCETTA, G.; BALDASSARRE, V.; SPINARDI, A.; FERRANTE, A. Effect of cutting on ascorbic acid oxidation and recycling in fresh-cut baby spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 88, p. 8-16, 2014.

COUSIN, M.A.; JAY, J.M.; VASAVADA, P.C. Psychrotrophic microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. chap. 13, p. 159-166.

COZZOLINO, R.; MARTIGNETTI, A.; PELLICANO, M. P.; STOCCHERO, M.; CEFOLA, M.; PACE, B.; DE GIULIO, B. Characterization of volatile profile and sensory analysis of fresh-cut "Radicchio di Chioggia" stored in air or modified atmosphere. **Food Chemistry**, New York, v. 192, n. 1, p. 603-611, 2016.

DANZA, A.; CONTE, A.; CEDOLA, A.; CHISACOVA, I.; DEL NOBILE, M.A. Active packaging solution to prolong the shelf life of rocket salad. **International Journal of Food Science and Technology**, Basel, v.50, p. 2688–2693, 2015.

DEGL'INNOCENTI, E.; PARDOSSI, A.; TOGNONI, F.; GUIDI, L. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarole' and 'rocket salad' when stored as fresh-cut products. **Food Chemistry**, New York, v. 104, n. 1, p. 209-215, 2007.

DEGL'INNOCENTI, E.; GUIDI, L.; PARDOSSI, A.; TOGNONI, F. Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *acephala*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 53, n. 26, p. 9980-9984, 2005.

DEL AGUILA, J.S.; SASAKI, F.F.; HEIFFIG, L.S.; MARCOS ORTEGA, E.M.; TREVISAN, M.J.; KLUGE, R.A. Effect of antioxidants in fresh cut radishes during the cold storage. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 51, n. 6, p. 1217-1223, 2008.

EVANGELISTA, R.M.; VIEITES, R.L.; CASTRO, P.S.; RALL, V.L. Qualidade de couve-chinesa minimamente processada e tratada com diferentes produtos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 324-332, 2009.

FERRANTE, A.; MARTINETTI, L.; MAGGIORE, T. Biochemical changes in cut vs. intact lamb's lettuce (*Valerianella olitoria*) leaves during storage. **International Journal of Food Science and Technology**, Basel, v. 44, n. 1, p. 1050-1056, 2009.

FERRANTE, A.; INCROCCI, L.; MAGGINI, R.; SERRA, G.; TOGNONI, F. Colour changes of fresh-cut leafy vegetables during storage. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, Helsinki, v. 2, p. 40-44, 2004.

FU, Y.M.; JIANG, J.R.; ZANBERMAN, G.; FUCHS, Y. Purification of polyphenoloxidase and the browning control of litchi fruit by glutathiose and citric acid. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Weinheim, v. 79, n. 7, p. 950-954, 1999.

GOYENECHE, R.; AGUEERO, M.V.; ROURA, S.; DI SCALA, K. Application of citric acid and mild heat shock to minimally processed sliced radish: color evaluation. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 93, p. 106-113, 2014.

HE, Q.; LUO, Y. Enzymatic browning and its control in fresh-cut produce. **Stewart Postharvest Review**, Montreal, v. 6, n. 3, p. 1-7, 2007.

HEIMDAL, H.; KU, H.N.B.F.; POLL, L.; LARSEN, L.M. Biochemical changes and sensory quality of shredded and MA-packaged Iceberg lettuce. **Journal of Food Science**, Malden, v. 60, p. 1265-1276, 1995.

HERNÁNDEZ, A.E.; MÁRQUEZ CARDOZO, C.J.; RESTREPO FLORES, C.E.; CANO SALAZAR, J.A.; PATIÑO GÓMEZ, J.H. Aplicación de tratamiento térmico, recubrimiento comestible y baño químico como tratamientos poscosecha para la conservación de hortalizas mínimamente procesadas. **Acta Agronómica**, Colombia, v. 63, n. 1, p. 1-10, 2014.

IHL, M.; ARAVENA, L.; SCHEUERMANN, E.; UQUICHE, E.; BIFANI, V. Effect of immersion solutions on shelf-life of minimally processed lettuce, **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology**, Georgia, v. 36, n. 6, p. 591-599, 2003.

JESUS, M. M. S.; CARNELOSSI, M. A. G.; SANTOS, S. F.; NARAIN, N.; CASTRO, A. A. Inibição do escurecimento enzimático de quiabo minimamente processado. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 4, p. 524-530, 2008.

JIANG, Y.; MILES, P.W. Generation of H₂O₂ during enzymic oxidation of catechin. **Phytochemistry**, Washington, v. 33, p. 29-34, 1993.

KATO-NOGUCHI, H.; WATADA, A.E. Citric acid reduces the respiration of fresh-cut carrots. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 1, p. 136-136, 1997.

KAYASHIMA, T.; KATAYAMA, T. Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems. **Biochimica et Biophysica Acta**, Cambridge, v. 1573, p. 1-3, 2002.

KIRCA, A.; YEMIS, O.; OZKAN, M. Chlorophyll and colour changes in grapevine leaves preserved by passive modification. **European Food Research and Technology**, Çanakkale, v. 223, p. 387–393, 2006.

KLUGE, R.A.; PICOLI, A.A.; AGUILA, J.S. Respiração e produção de etileno em beterrabas inteiras e minimamente processadas submetidas a tratamentos com etileno e biorreguladores. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 54-57, 2010.

KLUGE, R.A.; GEERDINK, G.M.; TEZOTTO-ULIANA, J.V.; DANELON GUASSI, S.; ZORZETO, T.Q.; CERQUEIRA SASAKI, F.F.; MELLO, S.D.C. Qualidade de pimentões amarelos minimamente processados tratados com antioxidantes. **Semina - Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 801-811, 2014.

KOUDELA, M.; PETŘÍKOVÁ, K. Nutritional composition and yield of endive cultivars: *Cichorium endivia* L. **Horticultural Science**, London, v. 34, n. 1, p. 6-10, 2007.

LANDI, M.; DEGL'INNOCENTI, E.; GUGLIELMINETTI, L.; GUIDI, L. Role of ascorbic acid in the inhibition of polyphenoloxidase and the prevention of browning in different browning-sensitive *Lactuca sativa* var. capitata (L.) and *Eruca sativa* (Mill.) stored as fresh-cut produce. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 93, n. 8, p. 1814-1819, 2013.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, Davis, v. 148, p. 350-382, 1987.

LLORACH, R.; MARTINEZ-SANCHEZ, A.; TOMAS-BARBERAN, F.A.; GIL, M.I.; FERRERES, F. Characterization of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. **Food Chemistry**, New York, v. 108, n. 3, p. 1028-1038, 2008.

LOPEZ-GALVEZ, G.; SALTVEIT, M.; CANTWELL, M. The visual quality of minimally processed lettuces stored in air or controlled atmosphere with emphasis on romaine and iceberg types. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 8, p. 179-190, 1996.

LUCERA, A.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M.A. Shelf life of ready-to-cook cauliflower mixtures as affected by packaging film mass transport properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Basel, v. 47, p. 1598–1604, 2012.

MADHAVI, D.L.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. **Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives**. New York: CRC Press, 1995. 217 p.

MANOLOPOULOU, E.; VARZAKAS, T. Effect of storage conditions on the sensory quality, colour and texture of fresh-cut minimally processed cabbage with the addition of ascorbic acid, citric acid and calcium chloride. **Food and Nutrition Sciences**, Bologna, v. 2, n. 1, p. 956-963, 2011.

_____. Application of antibrowning agents in minimally processed cabbage. **Journal of Food and Nutritional Disorders**, Los Angeles, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2014.

- MANOLOPOULOU, H.; LAMBRINOS, G.; CHATZIS, E.; XANTHOPOULOS, G.; ARAVANTINOS, E. Effect of temperature and modified atmosphere packaging on storage quality of fresh-cut romaine lettuce. **Journal of Food Quality**, Malden, v. 33, p. 317-336, 2010.
- MASCHERPA, D.; CARAZZONE, C.; MARRUBINI, G.; GAZZANI, G.; PAPETTI, A. Identification of phenolic constituents in *Cichorium endivia* Var. *crispum* and Var. *latifolium* salads by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 60, n. 49, p. 12142-12150, 2012.
- MELO, A.A.M.; VILAS BOAS, E.V.B. Inibição do escurecimento enzimático de banana maçã minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 110-115, 2006.
- NICOLAS, J.J.; RICHARDFORGET, F.C.; GOUPY, P.M.; AMIOT, M.J.; AUBERT, S.Y. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Toronto, v. 34, n. 2, p. 109-157, 1994.
- NUNES, M.C.D.N. Correlations between subjective quality and physicochemical attributes of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 107, p. 43-54, 2015.
- OMS-OLIU, G.; ROJAS-GRAUE, M.A.; GONZALEZ, L.A.; VARELA, P.; SOLIVA-FORTUNY, R.; HERNANDO, M.I.H.; MUNUERA, I.P. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: a review. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 57, n. 3, p. 139-148, 2010.
- PEN, L.T.; JIANG, Y.M. Effects of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut Chinese water chestnut. **Lwt-Food Science and Technology**, Georgia, v. 36, n. 3, p. 359-364, 2003.
- PIAGENTINI, A.M.; GÜEMES, D.R.; PIROVANI, M.E. Mesophilic aerobic population of fresh-cut spinach as affected by chemical treatment and type of packaging film. **Journal of Food Science**, Malden, v. 68, p.602-606, 2003.
- PINELI, L.L.O. Processamento mínimo de batata. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 1., 2004, Viçosa. **Resumos...** Viçosa: UFV, 2004. p. 71-81.
- PROULX, E.; YAGIZ, Y.; NUNES, M.C.N.; EMOND, J.P. Quality attributes limiting snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) postharvest life at chilling and non-chilling temperatures. **HortScience**, Alexandria, v.45, p.1238-1249, 2010.
- 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**, New York, v. 101, n. 3, p. 1254-1262, 2007.

RICHARD-FORGET, F.C.; GAUILLARD, F.A. Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*Pyrus communis* Cv. Williams) polyphenoloxidase and peroxidase: a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 45, p. 2472–2476, 1997.

ROBINSON, D. S. Peroxidases and their significance in fruits and vegetables. In: FOX, P. F, **Food Enzymology**, Elsevier, London, p. 399-426, 1991.

RUÍZ-JIMÉNEZ, J.M.; ZAPATA, P.J.; SERRANO, M.; VALERO, D.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; CASTILLO, S.; GUILLÉN, F. Effect of oxalic acid on quality attributes of artichokes stored at ambient temperature. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 95, p. 60–63, 2014.

SAPERS, G.M. Browning of foods: control by sulfates, antioxidants, and other means. **Food Technology**, Chicago, v. 47, p. 75-85, 1993.

SAPERS, G.M.; HICKS, K.B.; MILLER, R.L. Antibrowning agents. In: BRANEN, A.L.; DAVIDSON, P.M.; SALMINEN, S.; THORNGATE III, J.H. **Food additives**. 2nd ed. New York: CRC Press, 2001.chap. 19, p. 545-546, 2001.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT 9.3**: user's guide. Cary, 2011. 8621 p.

SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 53, p. 1305–1319, 2002.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p. 144-158, 1965.

SON, S.M.; MOON, K.D.; LEE, C.Y. Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 48, n. 6, p. 2071-2074, 2000.

SUBRAMANIAN, N.; VENKATESH, P.; GANGULI, S.; SINKAR, V.P. Role of polyphenoloxidase and peroxidase in the generation of black tea thea flavins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v. 47, p. 2571–2578, 1999.

SUTTIRAK, W.; MANURAKCHINAKORN, S. Potential application of ascorbic acid, citric acid and oxalic acid for browning inhibition in fresh-cut fruits and vegetables. **Walailak Journal of Science and Technology**, Walailak, v. 7, n. 1, p. 5-14, 2010.

THOMPSON, J.E.; LEGGE, R.L.; BARBER, R.F. Tansley review 8: the role of free-radicals in senescence and wounding. **New Phytologist**, Lancaster, v. 105, n. 3, p. 317-344, 1987.

TIVERON, A.P.; MELO, P.S.; BERGAMASCHI, K.B.; VIEIRA, T.M.F.S.; REGITANO-D'ARCE; M.A.B.; ALENCAR, S.M. Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 13, n. 7, p. 8943-8957. 2012.

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

WATADA, A.E.; QI, L. Quality of fresh-cut produce. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, p. 201-205, 1999.

ZAWISTOWSKI, J.; BILIADERIS, C.G.; ESKIN, N.A.M. Polyphenoloxidases. In: ROBINSON, D.S.; ESKIN, N.A.M. **Oxidative enzymes in foods**. London: Elsevier, 1991. p. 217–273.

ZHAN, L.; YU, L.; JINGIANG, H.; PANG, L.; HUIPING, F. Browning inhibition and quality preservation of fresh-cut romaine lettuce exposed to high intensity light. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 14, p. 70–76, 2012.

ZHAN, L.J.; FONTANA, E.; TIBALDI, G.; NICOLA, S. Qualitative and physiological response of minimally processed garden cress (*Lepidium sativum* L.) to harvest handling and storage conditions. **Journal of Food Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 7, n. 3, p. 43-50, 2009.

ZHENG, X.; TIAN, S.; MENG, X.; LI, B. Physiological and biochemical responses in peach fruit to oxalic acid treatment during storage at room temperature. **Food Chemistry**, New York, v. 104, p. 156–162, 2007.

ANEXOS

Anexo A

Tabela 1 – Taxa respiratória (mL CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹) de escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas a 90-95% UR por 20 dias

Dias de armazenamento	Temperaturas			
	0°C	5°C	10°C	15°C
0	120,04 Ba	120,04 Ea	120,04 Da	120,04 Ca
1	17,19 Ec	38,41 Fbc	49,36 Eab	77,85 Cb
2	240,33 Ac	596,00 Ab	727,38 Aa	828,26 Aa
3	157,49 Bc	243,35 Cb	339,00 Ba	424,63 Ba
4	163,34 Bc	277,14 Cb	314,15 Bb	468,63 Ba
5	46,04 Dc	275,59 Cb	355,99 Ba	-
6	136,98 Bc	253,19 Cb	384,32 Ca	-
7	251,37 Ab	339,91 Ba	-	-
8	123,05 Bb	313,84 Ba	-	-
9	152,46 Bb	295,89 Ca	-	-
10	215,01 Ab	384,99 Ba	-	-
11	92,92 Cb	242,82 Ca	-	-
12	157,79 Bb	269,22 Ca	-	-
13	117,06 Bb	205,95 Da	-	-
14	148,17 Bb	244,45 Ca	-	-
15	142,38 Ba	-	-	-
16	142,40 Ba	-	-	-
17	139,77 Ba	-	-	-
18	128,71 Ba	-	-	-
19	117,37 Ba	-	-	-
20	143,40 Ba	-	-	-

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre as temperaturas dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Tabela 2 – Produção de etileno ($\mu\text{L CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas a 90-95% UR por 20 dias

Dias de armazenamento	Temperaturas			
	0°C	5°C	10°C	15°C
0	15,15 Aa	15,15 Aa	15,15 Aa	15,15 Aa
1	0,12 Cb	0,52 Ba	0,46 Ca	0,87 Ba
2	0,15 Cb	0,17 Bb	0,26 Cb	1,70 Ba
3	0,06 Cb	0,24 Bb	0,35 Cb	1,87 Ba
4	0,14 Cc	0,61 Bb	0,54 Cb	1,85 Ba
5	0,06 Cb	0,36 Ba	0,56 Ca	-
6	0,24 Bb	0,12 Cb	1,48 Ba	-
7	0,25 Ba	0,41 Ba	-	-
8	0,14 Cb	0,66 Ba	-	-
9	0,34 Ba	0,43 Ba	-	-
10	0,48 Ba	0,43 Ba	-	-
11	0,29 Ba	0,17 Ba	-	-
12	0,05 Ca	0,09 Ca	-	-
13	0,18 Cb	0,35 Ba	-	-
14	0,42 Bb	0,83 Ba	-	-
15	0,79 Aa	-	-	-
16	0,33 Ba	-	-	-
17	0,36 Ba	-	-	-
18	0,18 Ca	-	-	-
19	0,21 Ba	-	-	-
20	0,44 Ba	-	-	-

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre as temperaturas dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Tabela 3 – Médias do índice de escurecimento, luminosidade e cromaticidade em folhas de escarola minimamente processada armazenada em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias

		Índice de escurecimento	Luminosidade (L)	Cromaticidade (C)
Temperatura	0°C	0,76 a	53,38 a	33,83 a
	5°C	0,74 a	54,07 a	34,44 a
	10°C	0,70 a	54,05 a	32,93 a
	15°C	0,89 a	51,38 a	34,93 a
Dias de armazenamento	0	0,00 d	55,67 b	34,93 b
	2	0,00 d	49,74 c	35,61 b
	4	0,37 c	50,58 c	35,26 b
	6	0,98 b	54,22 b	34,88 b
	8	1,00 b	52,78 b	37,41 a
	10	0,50 c	57,01 a	37,13 a
	12	1,11 b	59,12 a	36,92 a
	14	1,55 a	54,35 b	36,99 a
	16	1,87 a	53,37 b	37,48 a
	18	1,83 a	55,08 a	34,57 b
	20	1,87 a	48,59 c	33,57 b

Médias seguidas de letras diferentes apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,01$)

Tabela 4 – Clorofila total ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias

Temp.	Dias de armazenamento										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
0°C	35,0	32,7	31,9	26,5	23,6	21,4	19,5	15,1	13,6	12,5	10,0
	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	BCa	Ca	Da	Ea	Ea	Ea
5°C	35,0	27,5	24,2	24,8	21,0	19,4	18,8	14,8	-	-	-
	Aa	Bb	Bb	Ba	Ca	Ca	Ca	Da	-	-	-
10°C	35,0	18,7	16,4	10,2	-	-	-	-	-	-	-
	Aa	Bc	Bc	Cb	-	-	-	-	-	-	-
15°C	35,0	17,9	15,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	Aa	Bc	Bc	-	-	-	-	-	-	-	-

Temp.: Temperaturas. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre as temperaturas dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Tabela 5 – Carotenoides totais (mg 100 g⁻¹ MF) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias

Temp.	Dias de armazenamento										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
0°C	3,39	3,47	3,48	2,84	2,37	2,3	2,11	1,71	1,37	1,23	1,01
	Aa	Aa	Aa	ABa	Ba	Ba	Ba	BCa	Ca	Ca	Ca
5°C	3,39	3,04	2,71	2,67	2,17	2,21	1,76	1,54			
	Aa	Aa	Bb	Ba	Ca	Ca	Da	Da	-	-	-
10°C	3,39	2,00	1,66	1,1							
	Aa	Bb	BCc	Cb	-	-	-	-	-	-	-
15°C	3,39	1,73	1,58								
	Aa	Bb	Bc	-	-	-	-	-	-	-	-

Temp.: Temperaturas. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre as temperaturas dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Tabela 6 – Teor de ácido ascórbico (mg 100 g⁻¹ MF) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias

Temp.	Dias de armazenamento										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
0°C	21,3	24,9	23,8	24,8	22,1	21,5	20,8	18,2	16,9	15,7	15,1
	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa	Ba	Ba	Ca	Ca	Ca
5°C	21,3	21,1	23,0	24,7	24,3	21,8	19,5	14,2			
	Aa	Ab	Aa	Aa	Aa	Aa	Ba	Cb	-	-	-
10°C	21,3	22,6	21,9	19,8							
	Aa	Aab	Aa	Ab	-	-	-	-	-	-	-
15°C	21,3	21,3	16,8								
	Aa	Aab	Bb	-	-	-	-	-	-	-	-

Temp.: Temperaturas. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre as temperaturas dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Tabela 7 – Compostos fenólicos totais (mg equivalente ácido gálico 100 g⁻¹ MF) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias

Temp.	Dias de armazenamento										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
0°C	109,1	115,3	76,3	66,6	81,9	62,4	68,5	58,2	79,4	61,5	91,7
	Aa	Aa	Cc	Cb	BCa	Db	Da	Db	Ca	Da	Ba
5°C	109,1	120,5	125,0	61,1	84,5	110,5	54,1	111,5			
	Aa	Aa	Aa	Db	Ca	Ba	Db	Ba	-	-	-
10°C	109,1	116,9	103,1	129,3							
	Aa	Aa	Bb	Aa	-	-	-	-	-	-	-
15°C	109,1	65,4	65,3								
	Aa	Bb	Bc	-	-	-	-	-	-	-	-

Temp.: Temperaturas. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre as temperaturas dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Tabela 8 – Perda de massa (%) em escarolas minimamente processadas mantidas em diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias

Temp.	Dias de armazenamento										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
0°C	0,0	0,12	0,15	0,15	0,18	0,28	0,3	0,33	0,33	0,45	0,46
	Ca	Bb	ABb	ABa	Aa	Aa	Ab	Ab	Aa	Aa	Aa
5°C	0,0	0,12	0,18	0,25	0,38	0,44	0,47	1,17			
	Da	Cb	Bb	Ba	Ba	Aa	Aa	Aa	-	-	-
10°C	0,0	0,12	0,34	0,49							
	Ca	Bb	Ab	Aa	-	-	-	-	-	-	-
15°C	0,0	3,08	3,14								
	Ba	Aa	Aa	-	-	-	-	-	-	-	-

Temp.: Temperaturas. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre as temperaturas dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Figura 1 – Escurecimento nas folhas de escarola minimamente processada mantida sobre diferentes temperaturas e 90-95% UR por 20 dias.

Anexo B

Tabela 1 - Concentração de oxigênio e dióxido de carbono em escarola minimamente processada embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 20 dias

Filmes	Dias de armazenamento					
	0	4	8	12	16	20
	Concentração de oxigênio (%)					
PVC	16,57 Aa	16,43 Aa	16,4 Aa	16,53 Aa	17,07 Aa	17,2 Aa
PEBD	14,23 Aa	12,53 Ab	12,4 Ab	12,67 Ab	13,2 Ab	11,67 Ab
PP	14,70 Aa	11,27 Bbc	14 Aab	12,7 Abb	14,23 Ab	12,2 ABb
BOPP	15,90 Aa	8,76 Bc	8,32 BCc	7,54 BCc	6,07 Cc	4,37 Cc
	Concentração de dióxido de carbono (%)					
	PVC	3,28 Ab	2,89 Ac	2,92 Ad	3,06 Ad	3,19 Ad
	PEBD	6,35 ABa	4,69 Bb	4,84 Bc	4,9 Bc	5,56 Bc
	PP	7,2 Ba	11,57 Aa	12,1 Ab	11,53 Ab	10,85 Ab
	BOPP	7,29 Ba	15,8 Aa	21,7 Aa	21,23 Aa	20,03 Aa

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre os filmes dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$)

Tabela 2 – Médias do índice de escurecimento em folhas de escarola minimamente processada embalada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 95% por 20 dias

Índice de escurecimento		
Filme	PVC	0,28 a
	PEBD	0,38 a
	PP	0,57 a
	BOPP	0,59 a
Dias de armazenamento	0	0,00 d
	4	0,00 d
	8	0,00 d
	12	0,13 c
	16	0,85 b
	20	1,76 a

Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$)

Figura 1 – Escurecimento nas folhas de folhas de escarola minimamente processada embalada acondicionada em diferentes filmes e armazenadas a 0°C e UR 90-95% por 20 dias

Anexo C

Tabela 1 - Concentração de oxigênio no interior de embalagens de escarola minimamente processada tratadas com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 21 dias

Trat.	Dias de armazenamento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
CT	17,9 Bb	18,4 ABb	18,7 ABa	18,8 ABa	18,4 ABbc	18,7 ABb	19,5 Aab	19,5 Aa
AA	18,4 Ab	17,2 BCc	16,6 Cb	17,2 BCb	17,1 BCc	17,3 BCc	18,2 ABb	19 Aa
AC	19,8 Aa	19,8 Aa	19,5 Aa	19,2 Aa	19,6 Aab	19,6 Aab	20,0 Aa	19,9 Aa
AO	19,9 Aa	20,2 Aa	19,9 Aa	19,8 Aa	20,2 Aa	20,3 Aa	-	-
EDTA	18,8 Bab	19,6 ABa	19,7 ABa	19,7 ABa	19,9 ABa	20 ABa	-	-

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Trat.: Tratamentos; CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

Tabela 2 - Concentração de oxigênio no interior de embalagens de escarola minimamente processada tratadas com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 21 dias

Trat.	Dias de armazenamento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
CT	3,87 Aa	2,49 Bab	2,93 Aa	3,14 Aa	2,27 Ba	1,84 Bab	1,6 Bab	1,78 Ba
AA	3,57 Aa	3,12 Aa	3,53 Ab	2,74 ABab	2,55 ABa	2,53 ABa	2,25 Ba	1,92 Ba
AC	2,04 Ab	1,63 Abc	1,5 Ab	1,78 Ab	1,31 ABb	1,12 Bbc	1,11 Bb	1,3 ABa
AO	1,67 Ab	1,16 Ac	1,03 Aa	1,45 Ab	0,32 Bc	0,51 Bc	-	-
EDTA	3,5 Aa	1,43 Cc	1,45 Cb	2,47 Bab	0,87 Db	0,69 Dc	-	-

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). Trat.: Tratamentos; CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

Tabela 3 - Índice de escurecimento de escarola minimamente processada tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 21 dias

Tratamentos	Dias de armazenamento							
	0	3	6	9	12	15	18	21
CT	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0 Cb	0 Cb	0,71 Bb	1,25 Ab
AA	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0 Cb	0 Cb	0,91 Aa	1,5 Aab
AC	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0 Cb	0 Cb	1 Aa	1,7 Aa
AO	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0,5 Ba	1,7 Aa	-	-
EDTA	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0 Ca	0,7 Ba	1,5 Aa	-	-

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas entre os dias de armazenamento e minúsculas entre os tratamentos dentro de cada dia, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). Trat.: Tratamentos; CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

Tabela 4 – Médias da Luminosidade e cromaticidade das folhas de escarola minimamente processada, tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e UR 95%, por 21 dias

		Luminosidade (L)	Cromaticidade (C)
Tratamento*	CT	52,54 ab	34,21 a
	AA	52,80 a	34,38 a
	AC	52,41 ab	34,38 a
	AO	52,45 ab	34,78 a
	EDTA	50,79 b	33,93 a
Dias de armazenamento**	0	56,17 a	34,70 abc
	3	52,4 a	35,86a
	6	51,46 ab	32,64 c
	9	53,17 a	35,19 abc
	12	52,19 a	34,33 abc
	15	48,16 b	33,15 bc
	18	51,98 a	34,37 bc
	21	52,5 a	34,51 abc

*: Médias seguidas de letra diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Médias seguidas de letra diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%

Figura 1 – Escurecimento nas folhas de folhas de escarola minimamente processada tratada com antioxidantes e armazenadas a 0°C e 90-95% UR por 21 dias. CT: Controle, AA: Ácido ascórbico 1%, AC: Ácido cítrico 1%, AO: Ácido Oxálico 1%, EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético 2%