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

**Conservação da qualidade visual e dos compostos bioativos de
beterraba minimamente processada**

Ana Paula Preczenhak

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica
de Plantas

**Piracicaba
2017**

Ana Paula Preczenhak
Bióloga

**Conservação da qualidade visual e dos compostos bioativos de beterraba
minimamente processada**

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

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências.
Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2017

RESUMO

Conservação da qualidade visual e dos compostos bioativos de beterraba minimamente processada

As técnicas utilizadas no preparo do produto minimamente processado (PMP) devem preconizar a menor perda possível dos principais compostos funcionais e de qualidade durante o preparo e armazenamento dos alimentos. No entanto, há respostas dos PMPs quanto ao dano sofrido durante seu preparo, que disparam várias reações relacionadas com a fisiologia do estresse, que podem ser amenizadas com a aplicação de aditivos antioxidantes. Assim, torna-se importante determinar os pontos principais de perdas dos compostos funcionais, bem como, entender a relação de aditivos antioxidantes durante o processamento e o armazenamento. Foram avaliadas as perdas qualitativas nas etapas do processamento de beterraba minimamente processada. Após, foi testada a utilização de cisteína (aminoácido antioxidante) para manutenção da qualidade visual, capacidade antioxidante, betalaínas e polifenóis no armazenamento. Como principais resultados, o descascamento foi a etapa crítica do processo, com a perda das principais camadas celulares (colênquima) de acúmulo de compostos bioativos. Com a aplicação de cisteína, esta foi mais eficaz nas maiores dosagens (0,1% e 0,2%) para manutenção dos aspectos visuais e controle do esbranquiçamento superficial, dos teores de betalaínas e compostos fenólicos totais. Isso refletiu na manutenção da capacidade antioxidante do produto durante os dias de análise. No entanto, dosagens mais altas não impedem a ação enzimática da polifenoloxidase (PPO), o que resulta principalmente na perda das concentrações de ácidos hidroxicinâmicos. Ainda, foi identificada pela primeira vez em beterraba uma betacianina fosforilada de ocorrência sazonal, a 2'O- apiosil betanina. Em conclusão, este trabalho apresenta importante contribuição para o entendimento das relações entre as perdas dos principais compostos bioativos e os processos de preparo e armazenamento de beterraba minimamente processada. Além disso, foi demonstrado que a cisteína é eficiente para conservação das propriedades funcionais em beterraba minimamente processada, atendendo aos requisitos de um produto antioxidante para aplicação em alimentos, sendo eficaz em baixas concentrações.

Palavras-chave: *Beta vulgaris* L.; Betalaínas; Capacidade antioxidante; Esbranquiçamento; Polifenóis; Processamento mínimo

ABSTRACT

Preservation of visual quality and bioactive compounds of fresh-cut red beet

The techniques used in the preparation of the fresh-cut product should recommend the lowest possible loss of the main functional and quality compounds during the preparation and storage of the food. However, there are several responses from the fresh-cut product regarding the damage suffered during their preparation, which trigger several reactions related to the physiology of stress, which can be mitigated by the application of antioxidant additives. Thus, it is important to determine the main loss points of the functional compounds, as well as to understand the interaction of antioxidant additives, such as cysteine, in order to avoid or mitigate such losses, being analyzed for the direct interference of processing and storage. The qualitative losses in the processing stages of fresh-cut beets were evaluated. After that, the use of cysteine (antioxidant amino acid) for the maintenance of visual quality, antioxidant capacity, betalains and polyphenols in storage was tested. As the main results, peeling was the critical stage of the process, with loss of the main cellular layers (collenchyma) of accumulation of bioactive compounds. Cysteine application, was more effective in the higher dosages (0.1% and 0.2%) for maintenance of the visual aspects and control of the superficial whitening, the contents of betalains and total phenolic compounds. This reflected in conservation the antioxidant capacity of the product during the days of analysis. However, higher dosages do not prevent the enzymatic action of polyphenoloxidase (PPO), which results mainly in the loss of hydroxycinnamic acid concentrations. As well, a seasonally occurring phosphorylated betacyanin, 2'*O*-apiosyl betanine, was first time identified in beet. In conclusion, this work presents an important contribution to the understanding of the relationships between the losses of the main bioactive compounds and the processes of preparation and storage of minimally processed beets. In addition, it has been demonstrated that cysteine is efficient for preserving the functional properties in minimally processed beets, meeting the requirements of an antioxidant product for food application, being effective in low concentrations.

Keywords: *Beta vulgaris* L.; Betalains; Antioxidant capacity; Whiteness polyphenols; Minimal processing

1. INTRODUÇÃO

A beterraba púrpura (*Beta vulgaris* L.) pertence à família *Quenopodiaceae*, comumente chamada de “raiz” tuberosa, é botanicamente classificada como tubérculo hipocotiledonar, sendo que as raízes verdadeiras se desenvolvem na porção terminal do órgão (Appezato-da-Glória, 2015). É originária de regiões de clima temperado da Europa e do Norte da África. No Brasil, as principais cultivares plantadas são as beterrabas de coloração púrpura, com a finalidade de consumo *in natura* ou industrial (Cenci, 2011).

Esta hortaliça é comumente comercializada como produto inteiro ou minimamente processadas. O maior mercado consumidor mundial de produtos minimamente processados (PMPs), ainda são as redes de *fast foods*, com constante expansão de consumo no varejo e nas redes de *food service* (Edelenbos, 2016). O processamento mínimo possibilita ao consumidor, além da economia de tempo, redução de resíduos, maior praticidade de consumo e facilidade no preparo, importantes características para o nicho de mercado atual, que busca aliar melhorias na qualidade nutricional das refeições com a conveniência dos produtos (Gomes *et al.*, 2014). Apesar das facilidades que os PMPs trazem, há perdas durante seu preparo, principalmente nas etapas de corte, lavagem e sanitização. Ainda, são apontadas perdas nutricionais ao longo do armazenamento, ocasionadas pelo estresse sofrido durante o processamento, desencadeando reações catabólicas, como a oxidação dos vários compostos funcionais e antioxidantes da hortaliça, mesmo em condições ideais de resfriamento (Cenci, 2011).

Visualmente, não é possível observar as perdas ocorridas durante a conservação refrigerada do produto. O que se pode observar é o esbranquiçamento (“*white blush*”), perceptível principalmente em beterraba e cenoura minimamente processadas. Este sintoma é ligado à forte desidratação das células superficiais danificadas pelo corte (Tatsumi *et al.*, 1991; Simões *et al.*, 2010). O esbranquiçamento de beterraba minimamente processada pode ser observado já nos primeiros dias de armazenamento e está diretamente relacionado ao tamanho do corte do produto, sendo que quanto menor a espessura, mais acentuado o sintoma. Ainda, tem-se relacionado à perda de pigmentos, as betalaínas, como fator preponderante à aceleração do esbranquiçamento de beterrabas minimamente processadas (Kluge *et al.*, 2006).

A coloração púrpura característica das beterrabas é resultante da alta concentração de betalaínas. As betalaínas são pigmentos nitrogenados hidrossolúveis, sintetizados pelo metabolismo secundário e estão presentes em todos os órgãos da planta, assim sendo armazenados principalmente no vacúolo das células. Mais de 70 betalaínas já são conhecidas (Strack *et al.*, 2003) e são divididas em dois grupos de acordo com sua estrutura química: as betacianinas (coloração vermelho-violeta) e as betaxantinas (coloração amarela) (Gandia-Herrero *et al.*, 2016). As principais betacianinas de beterraba, em ordem de importância, são a betanina e a betanidina. As betaxantinas são representadas pelas vulgaxantina I e II, que

correspondem a pelo menos 95% do total de pigmentos amarelos presentes na beterraba (Nilsson, 1970). São importantes compostos para a indústria, sendo utilizados, principalmente como corantes em alimentos e como compostos antioxidantes em suplementos para atletas ou fortificantes nutricionais de alimentos processados (Stintzing, *et al.*, 2006). Apesar de apresentar baixa estabilidade térmica, as betalaínas possuem elevada capacidade antioxidante, sendo equivalentes às antocianinas, quando analisadas em pH 3,0 a 7,0, uma vez que as betalaínas mantêm a estabilidade e o poder antioxidante nesta faixa de pH (Esatbeyoglu *et al.*, 2014).

As betalaínas são compostos funcionais importantes para a saúde humana, atuando principalmente na inibição da peroxidação lipídica, aumento da resistência à oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), além de apresentar efeitos quimio-preventivos e antimicrobianos (Gengatharan *et al.*, 2017). Ainda, são cotadas para desempenhar papel importante em neutralizar o estresse oxidativo, uma vez que se mostram capazes de modular o desequilíbrio entre as espécies oxidantes e o sistema de defesa antioxidante. Estes compostos apresentam efeito protetor do DNA, uma vez que atuam diminuindo os danos ocasionados pelo peróxido de hidrogênio na molécula (Esatbeyoglu *et al.*, 2014), assim como a sua clivagem (Sakihama *et al.*, 2012). Devido ao grande potencial antioxidante, as betalaínas ganharam novamente destaque na área de pesquisa nos últimos anos, apresentando grandes contribuições para o entendimento das perdas por meio dos processos oxidativos nas plantas.

Muitas enzimas são ativadas como resposta ao corte, o que promove o estresse oxidativo e compromete a estrutura do tecido, assim como a qualidade nutricional e sabor do alimento (Cenci, 2011). Este processo desencadeia uma cascata de reações metabólicas, dentre elas o aumento das taxas respiratórias e, também de compostos-chaves de resposta ao dano, como os compostos fenólicos, que são substratos de algumas enzimas oxidativas (Wang *et al.*, 2015).

Uma estratégia interessante para se reduzir as perdas ao longo do tempo de armazenamento e durante o processamento tem sido a utilização de produtos antioxidantes aplicados nas etapas de elaboração dos PMPs. Estas substâncias, de forma geral, funcionam reduzindo as reações enzimáticas, as quais promovem a oxidação de compostos funcionais da célula. Estas reações fazem parte da resposta ao estresse oxidativo do tecido injuriado. Um dos mais pronunciados e perceptíveis resultados destes processos é o escurecimento enzimático, visível pela formação da coloração amarronzada e perceptível pelo desenvolvimento de *off-flavours* (Chen *et al.*, 2016). Esta produção em excesso de espécies reativas de oxigênio (ROS), induzem o metabolismo de resposta ao estresse, que acaba afetando compostos funcionais importantes da célula vegetal, como os compostos fenólicos (Zhang *et al.*, 2013). Outro fator preponderante, é que além de inviabilizar o armazenamento e comercialização dos PMPs, faz parte do processo de degradação de compostos bioativos e, conseqüentemente, diminuição da capacidade antioxidante (Mishra *et al.*, 2013).

No caso do escurecimento, o substrato *o*-difenoI reage com o oxigênio formando σ -quinonas, que polimerizam resultando em melaninas escuras. A reação de oxigenação do σ -difenoI é realizada pela enzima chave do processo oxidativo, a polifenoloxidase (PPO) (Mishra, *et al.*, 2016). A PPO e os substratos fenólicos estão localizados em diferentes compartimentos celulares, nos plastídios e vacúolos, respectivamente. Porém, com a quebra dos compartimentos celulares durante o processamento mínimo, as diferentes enzimas e substratos são liberados, permitindo o contato e, conseqüentemente, a reação (Gomes *et al.*, 2014).

Outras enzimas estão envolvidas no processo de resposta ao estresse, tais como a peroxidase (POD), a qual age na oxidação de compostos fenólicos na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Terefe *et al.*, 2014). Acredita-se que a PPO é um promotor da atividade da POD, uma vez que H_2O_2 é gerado como subproduto durante a oxidação dos substratos fenólicos pela PPO e a atividade da POD tem aumento progressivo ao longo do armazenamento de frutas e hortaliças (Lin *et al.*, 2016).

Há evidências da participação destes sistemas enzimáticos na degradação das betalaínas, principalmente da POD. Sua ação transforma as betalaínas em conjugados quinona-betalaínas, o que possibilita a reação com aminoácidos e proteínas (Martínez-Parra e Muñoz, 2001; Escribano *et al.*, 2002). Estas reações podem acarretar na redução dos teores de betalaínas em beterrabas minimamente processadas durante seu procedimento de corte ou armazenamento refrigerado (Kluge *et al.*, 2006; Vitti *et al.*, 2005).

Além dos aditivos mais conhecidos, como os ácidos ascórbico e cítrico, nos últimos anos as propriedades antioxidantes de alguns aminoácidos têm sido muito exploradas, destacando valina, metionina, fenilalanina e cisteína. Estes aminoácidos estão sendo diretamente relacionados com a regulação/interferência da ação da enzima PPO. A cisteína, em particular, vem apresentando resultados muito significativos, reduzindo o escurecimento de hortaliças durante o armazenamento, mantendo assim o produto conservado por um maior período (Ali *et al.*, 2016; Ali *et al.*, 2015; Cabezas-Serrano *et al.*, 2013; Ghidelli *et al.*, 2014; Amodio *et al.*, 2011). A cisteína combate o escurecimento dos PMPs de duas formas. Em baixas concentrações (até 2 mM), ela atua como inibidor da PPO, competindo diretamente pelo sítio ativo da enzima. Em altas concentrações (1,0 M), sua ação se dá pela reação com quinonas, por meio do grupamento tiol, formando um aduto incolor e, assim, impedindo a formação da coloração amarronzada (Ali *et al.*, 2016). O pH é fator principal tanto para a ação da enzima, quanto para o desempenho dos produtos aditivos (Gomes *et al.*, 2014).

No entanto, não é conhecido até que ponto estas reações interferem na manutenção e proteção dos principais compostos bioativos como os polifenóis e as betalaínas, bem como, o quanto isso poderia afetar a capacidade antioxidante de beterraba. Ainda, não há trabalhos que relatam a interação da cisteína com as betalaínas, tanto na conservação direta da molécula, quanto indiretamente, por meio da redução da atividade de enzimas de degradação (como a

POD), em beterrabas minimamente processadas.

Para tanto, todas as características abordadas são muito importantes quando levamos em consideração os atributos funcionais da beterraba minimamente processada. As perdas resultantes do processo acarretam em produtos de menor durabilidade, menos ricos nutricionalmente e menos atrativos visualmente para o consumidor. Assim, tanto o processo de produção, quanto os tratamentos, que visem identificar e/ou quantificar as perdas totais e pontuais e, desta forma, tentar revertê-las, são práticas fundamentais para disponibilizar um produto que além de prático e acessível, seja seguro e de qualidade para o consumidor.

Referências

- ALI, S.; KHAN, A. S.; MALIK, A. U. Postharvest L-cysteine application delayed pericarp browning, suppressed lipid peroxidation and maintained antioxidative activities of litchi fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 121, p. 135-142, 2016.
- ALI, H. M. et al. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. **Journal of Food Science and Technology-Mysore**, v. 52, n. 6, p. 3651-3659, 2015.
- AMODIO, M. L. et al. Post-cutting quality changes of fresh-cut artichokes treated with different anti-browning agents as evaluated by image analysis. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, n. 2, p. 213-220, 2011.
- APPEZZATO-DA-GLORIA, B. **Morphology of plant underground systems**. 2015. 160 p.
- CABEZAS-SERRANO, A. B.; AMODIO, M. L.; COLELLI, G. Effect of solution pH of cysteine-based pre-treatments to prevent browning of fresh-cut artichokes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 75, p. 17-23, 2013.
- CENCI, S. **Processamento mínimo e frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. 1. Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. 144 p.
- CHEN, C. et al. Levels of phenolic compounds, antioxidant capacity, and microbial counts of fresh-cut onions after treatment with a combination of nisin and citric acid. **Horticulture Environment and Biotechnology**, v. 57, n. 3, p. 266-273, Jun 2016.
- EDELENBOS, M. Preparation and handling of fresh-cut root vegetables. 2016, 1141: International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium. p.77-90.
- ESATBEYOGLU, T. et al. Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: Electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 73, p. 119-126, 2014.
- ESCRIBANO, J. et al. Subcellular localization and isoenzyme pattern of peroxidase and polyphenol oxidase in beet root (*Beta vulgaris* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6123-6129, 2002.
- GANDIA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCIA-CARMONA, F. Biological Activities of Plant Pigments Betalains. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 6, p. 937-945, 2016.
- GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W.-S. The effect of pH treatment and

- refrigerated storage on natural colourant preparations (betacyanins) from red pitahaya and their potential application in yoghurt. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 437-445, 2017.
- GHIDELLI, C. et al. Extending the shelf life of fresh-cut eggplant with a soy protein-cysteine based edible coating and modified atmosphere packaging. **Postharvest Biology and Technology**, v. 95, p. 81-87, 2014.
- GOMES, M. H. et al. Polyphenoloxidase activity and browning in fresh-cut 'Rocha' pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. **Postharvest Biology and Technology**, v. 91, p. 32-38, 2014.
- KLUGE, R. A. et al. Armazenamento refrigerado de beterraba minimamente processada em diferentes tipos de corte. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 263-270, 2006.
- LIN, Y. et al. The roles of metabolism of membrane lipids and phenolics in hydrogen peroxide-induced pericarp browning of harvested longan fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 111, p. 53-61, 2016.
- MARTINEZ-PARRA, J.; MUNOZ, R. Characterization of betacyanin oxidation catalyzed by a peroxidase from *Beta vulgaris* L. roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 4064-4068, 2001.
- MISHRA, B. B.; GAUTAM, S. Polyphenol Oxidases: Biochemical and molecular characterization, distribution, role and its control **Enzyme Engineering**, v. 5, n. 1, p. 141- 149, 2016.
- MISHRA, B. B.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Free phenolics and polyphenol oxidase (PPO): The factors affecting post-cut browning in eggplant (*Solanum melongena*). **Food Chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 105-114, 2013.
- NILSSON, T. Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.). **Lantbrukshogskolans annaler**, v. 36, p. 179-219, 1970.
- SAKIHAMA, Y. et al. Beetroot betalain inhibits peroxynitrite-mediated tyrosine nitration and DNA strand cleavage. **Free Radical Research**, v. 46, n. 1, p. 93-99, 2012.
- SIMÕES, A. N. et al. Anatomical and physiological evidence of white blush on baby carrot surfaces. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, p. 45-52, 2010.
- STINTZING, F. C.; TRICHTERBORN, J.; CARLE, R. Characterisation of anthocyanin–betalain mixtures for food colouring by chromatic and HPLC-DAD-MS analyses. **Food chemistry**, v. 94, n. 2, p. 296-309, 2006.
- STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v. 62, n. 3, p. 247-269, 2003.
- TATSUMI, Y.; WATADA, A. E.; WERGIN, W. P. Scanning electron-microscopy of carrot stick surface to determine cause of white translucent appearance. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 5, p. 1357-1359, 1991.
- TEREFE, N. S.; BUCKOW, R.; VERSTEEG, C. Quality-related enzymes in fruit and vegetable products: effects of novel food processing technologies, part 1: high-pressure processing. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 54, n. 1, p. 24-63, 2014.
- VITTI, M. C. D. et al. Quality of minimally processed beet roots stored in different temperatures. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 48, n. 4, p. 503-510, 2005.

WANG, Q. G. et al. Effects of postharvest curing treatment on flesh colour and phenolic metabolism in fresh-cut potato products. **Food Chemistry**, v. 169, p. 246-254, 2015.

ZHANG, S. Y. et al. Effect of carbon monoxide on browning of fresh-cut lotus root slice in relation to phenolic metabolism. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 53, n. 2, p. 555-559, 2013.

2. AS ETAPAS INICIAIS DO PROCESSAMENTO MÍNIMO DE BETERRABA OCASIONAM AS MAIORES PERDAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Resumo

O trabalho objetivou determinar os principais pontos de perdas de compostos bioativos durante o processamento mínimo e a extensão do estresse causado ao produto, assim como, entender melhor a influência de cada etapa do processo na redução da qualidade de beterraba minimamente processada. Foram coletadas amostras de beterrabas híbrido Boro F1 durante as etapas do fluxograma de preparo do produto minimamente processado e analisados os teores de betalaínas (betacianinas e betaxantinas) e de compostos fenólicos e a atividade da polifenoloxidase. The whole beet material were collected with peel and peeled for anatomical analysis. Considerando que a concentração dos pigmentos e dos compostos fenólicos aumenta do centro para a casca, o descascamento representou a maior extensão de perdas para betacianinas e fenólicos. As proporções de perdas foram de 26% do total de 39%, ao final do processamento, para betacianinas e de 20% do total de 37,14%, ao final do processamento, para compostos fenólicos. Já para betaxantinas, a primeira sanitização provê sua redução mais expressiva, causando diminuição de 41,3% da concentração, dos 50% de perda ao final do processamento. A betanina é a betacianina de maior concentração no híbrido Boro F1, genótipo de beterraba vermelha que apresenta concentrações muito elevadas do pigmento vermelho em relação às betaxantinas. Anatomical sections have shown that cells of the collenchyma are smaller, with diminished intercellular spaces and two or more vacuoles per cell. Differently, parenchymal tissue was characterized by larger cells, well visible intercellular spaces containing single vacuole and smaller cell space compared to collenchyma cells. Em conclusão, as etapas iniciais apresentam a maior extensão de perdas de betalaínas e compostos fenólicos durante o processamento mínimo de beterraba. Ainda, estas etapas promovem a lixiviação da PPO, uma vez que, sua localização nas organelas é comprometida com a descompartimentalização celular, por ser uma enzima sinalizadora de estresse, também apresenta maior síntese nas células das camadas superficiais da beterraba. Porém, considerando que estas etapas são essenciais ao processo de elaboração do produto minimamente processado, as estratégias para reduzir as perdas devem focar em outros pontos, tais como as etapas de sanitização e/ou a utilização de aditivos na tentativa de preservar os pigmentos restantes durante o armazenamento.

Palavras-chave: *Beta vulgaris* L.; Betacianinas; Compostos fenólicos; anatomia; Polifenoloxidase

Abstract

The aim of this work was to determine the main points of loss of bioactive compounds during the minimum processing and the extension of the stress caused to the product, as well as to better understand the influence of each stage of the process in reducing the quality of fresh-cut beet. Samples of Boro F1 hybrid beets were collected during the flowchart stages of preparation of the fresh-cut product and analyzed for betalain content (betacyanins and

betaxanthines), phenolic compounds and polyphenoloxidase activity. The whole beet materials were collected with peel and peeled for anatomical analysis. As the concentration of the pigments and phenolic compounds increased from the center to the bark, peeling showed the highest losses of betacyanins and phenols. The loss proportions were 26% of the total of 39%, at the end of the processing, for betacyanins and 20% of the total of 37.14%, at the end of the processing, for phenolic compounds. As for betaxanthines, the first sanitization provides its most significant reduction, causing a 41.3% decrease in concentration, of the 50% loss at the end of processing. Betanin is the highest concentration of betacyanin in the Boro F1 hybrid, a red beet genotype with very high concentrations of red pigment compared to betaxanthines. Anatomical sections have shown that cells of the collenchyma are smaller, with diminished intercellular spaces and two or more vacuoles per cell. Differently, parenchymal tissue was characterized by larger cells, well visible intercellular spaces containing single vacuole and smaller cell space compared to collenchyma cells. In conclusion, the initial stages present the greatest extent of losses of betalains and phenolic compounds during the minimum beet processing. In addition, these steps promote the leaching of PPO, since its location in the organelles is compromised by cellular decompartmentalization, as it is a stress signaling enzyme, it also presents greater synthesis in the cells of the surface layers of beet. However, considering that these steps are essential to the fresh-cut product development process, strategies to reduce losses should focus on other points such as the sanitization steps and/or the use of additives in an attempt to preserve the remaining pigments during the storage. However, as these steps are crucial to the process, strategies to reduce losses should focus on other points such as sanitation steps and the use of additives as a way of preserving the pigments during storage.

Keywords: *Beta vulgaris* L.; Betacyanins; Betanin; Phenolics compounds; anatomy; Polyphenoloxidase

2.1. Conclusão

As etapas iniciais de descascamento e sanitização apresentam as maiores perdas de betalaínas e de compostos fenólicos durante o processamento mínimo de beterraba. Além disso, foi validada a importância das primeiras camadas de células (casca e colênquima) para a concentração final das betalaínas, assim como, a disparidade quanto ao tipo celular que remete a diferentes acúmulos de pigmentos. Embora as etapas de descascamento e corte da hortaliça façam parte do conceito de minimamente processados, podem ser visados outros pontos para amenizar as perdas, com estratégias como a utilização de aditivos, a fim de preservar os pigmentos durante o período de vida útil.

Referências

- APPEZZATO-DA-GLORIA, B. **Morphology of plant underground systems**. 2015. 160 p.
- CENCI, S. **Processamento mínimo e frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. 1. Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. 144 p.
- COSTA, A. P. D. et al. Minimally processed beetroot waste as an alternative source to obtain functional ingredients. **Journal of Food Science and Technology**, v. 8, n. 66, p. 1-9, 2017.
- DELGADO-VARGAS, F.; JIMENEZ, A. R.; PAREDES-LOPEZ, O. Natural pigments:

Carotenoids, anthocyanins, and betalains - Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173-289, 2000.

ESATBEYOGLU, T. et al. Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: Electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 73, p. 119-126, 2014.

ESCRIBANO, J. et al. Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. **Phytochemical Analysis**, v. 9, n. 3, p. 124-127, 1998.

GANDIA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCIA-CARMONA, F. Structural implications on color, fluorescence, and antiradical activity in betalains. **Planta**, v. 232, n. 2, p. 449-460, 2010.

_____. Purification and antiradical properties of the structural unit of betalains. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 6, p. 1030-1036, 2012.

_____. Biological activities of plant pigments betalains. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 6, p. 937-945, 2016.

GANDIA-HERRERO, F.; GARCIA-CARMONA, F. Biosynthesis of betalains: yellow and violet plant pigments. **Trends in Plant Science**, v. 18, n. 6, p. 334-343, 2013.

GEORGIEV, V. G. et al. Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit Dark Red. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, n. 2, p. 105-111, 2010.

GINER, J. et al. Effects of pulsed electric field processing on apple and pear polyphenoloxidases. **Food Science and Technology International**, v. 7, n. 4, p. 339-345, 2001.

GONÇALVES, L. C. P. et al. A comparative study of the purification of betanin. **Food Chemistry**, v. 131, n. 1, p. 231-238, 2012.

HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 4, p. R41-R50, 2006.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins e betalains. In: (Ed.). **Natural Foods Colorants**, 1996. p. 244-309.

KAHKONEN, M. P. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999.

KANNER, J.; HAREL, S.; GRANIT, R. Betalains - A new class of dietary cationized antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5178-5185, 2001.

KAPADIA, J. G.; RAO, G. S. Anticancer effects of red beet pigments. In: NEELWARNE, B. (Ed.). **Red Beet Biotechnology**, 2013. p.125-154.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, n. 2, p. 137, 1965.

KLUGE, R. A. et al. Avaliação de diferentes tipos de descascamento em beterraba minimamente processada. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha**, v. 7, n. 1, p. 48-55, 2005.

KUJALA, T.; LOPONEN, J.; PIHLAJA, K. Betalains and phenolics in red beetroot (*Beta vulgaris*) peel extracts: Extraction and characterisation. **Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences**, v. 56, n. 5-6, p. 343-348, 2001.

KUJALA, T. S. et al. Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: Distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5338-5342, 2000.

_____. Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. **European Food Research and Technology**, v. 214, n. 6, p. 505-510, 2002.

LEE, E. J. et al. Betalain and Betaine Composition of Greenhouse- or Field-Produced Beetroot (*Beta vulgaris* L.) and Inhibition of HepG2 Cell Proliferation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 6, p. 1324-1331, 2014.

MISHRA, B. B.; GAUTAM, S. Polyphenol Oxidases: Biochemical and molecular characterization, distribution, role and its control **Enzyme Engineering**, v. 5, n. 1, p. 141-149, 2016.

NEELWARNE, B.; RUDRAPPA, T. Peroxidases and other enzymes from red beet hairy roots. In: (Ed.). **Red Beet Biotechnology**: Springer, 2013. cap. 12, p.283-334.

NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA, Z.; GAWĘDA, M. **Changes in quality of selected red beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars during the growing season**. *Folia Horticulturae*. 26: 139 p. 2014.

PEDRENO, M. A.; ESCRIBANO, J. Studying the oxidation and the antiradical activity of betalain from beetroot. **Journal of Biological Education**, v. 35, n. 1, p. 49-51, 2000.

RICO, D. et al. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 7, p. 373-386, 2007.

SAKAI, W. S. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue o. **Stain Technology**, v. 48, n. 5, p. 247-249, 1973.

SAWICKI, T.; BACZEK, N.; WICZKOWSKI, W. Betalain profile, content and antioxidant capacity of red beetroot dependent on the genotype and root part. **Journal of Functional Foods**, v. 27, p. 249-261, 2016.

SEPULVEDA-JIMENEZ, G. et al. Betacyanin synthesis in red beet (*Beta vulgaris*) leaves induced by wounding and bacterial infiltration is preceded by an oxidative burst. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 64, n. 3, p. 125-133, 2004.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144, 1965. Disponível em: < <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.abstract> >.

SLATNAR, A. et al. HPLC-MS(n) Identification of Betalain Profile of Different Beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) Parts and Cultivars. **J Food Sci**, v. 80, n. 9, p. C1952-8, 2015.

STINTZING, F. C. et al. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 442-451, 2005.

STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v. 62, n. 3, p. 247-269, 2003.

VITTI, M. C. D. et al. Physiological and microbiological aspects of fresh cut beet roots. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 1027-1032, 2004.

_____. Comportamento de beterraba minimamente processada em diferentes espessuras de corte. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 623-626, 2003.

VON ELBE, J. H.; SCHWARTZ, S. J.; HILDENBRAND, B. E. Loss and regeneration of betacyanin pigments during processing of red beets. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 6, p. 1713-1715, 1981.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. **Analysis of phenolics plant metabolites**. Wiley-Blackwell, 1994.

WINK, M. Compartmentation of secondary metabolites and xenobiotics in plant vacuoles. In: LEIGH, R. A. e SANDERS, D. (Ed.). **Advances in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology, Vol 25: the Plant Vacuole**, v.25, 1997.

ZIELINSKA-PRZYJEMSKA, M. et al. The Beetroot Component Betanin Modulates ROS Production, DNA Damage and Apoptosis in Human Polymorphonuclear Neutrophils. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 6, p. 845-852, 2012.

3. A CISTEÍNA FAVORECE OS ASPECTOS VISUAIS DE BETERRABA MINIMAMENTE PROCESSADA

Resumo

O trabalho objetivou determinar a eficácia da aplicação de cisteína para os parâmetros visuais de cor e esbranquiçamento ligados ao estresse oxidativo e degradação de betalaínas em beterraba vermelha híbrido Boro F1 minimamente processada. Foram aplicadas concentrações crescentes de cisteína correspondendo à 0,0%, 0,025%, 0,05%, 0,1% e 0,2%, durante a etapa de enxágue do processamento mínimo. As avaliações foram realizadas antes do processamento (dia -1), no dia do processamento (dia 0) e a cada três dias para determinar os parâmetros de cor (luminosidade, ângulo hue, cromaticidade), assim como, a progressão do índice de esbranquiçamento, concentração de betalaínas (betacianinas, betaxantinas, betanina), atividade da peroxidase e as correlações entre os parâmetros avaliados. Os parâmetros de cor demonstraram relação com a reidratação dos tecidos e a maior dosagem de cisteína, que conservou tonalidades mais intensas até o final do armazenamento, bem como, os menores índices de esbranquiçamento. O esbranquiçamento superficial causado pela desidratação das células e sua aparência estriada nos retalhos está envolvida com a anatomia do hipocótilo de beterraba vermelha. Ainda, o esbranquiçamento, a cromaticidade e o ângulo hue foram diretamente correlacionados aos teores de betanina. As betalaínas apresentaram comportamento diferenciado durante o armazenamento, sendo que, a cisteína em suas maiores concentrações parece favorecer a conservação das betacianinas totais, porém, não da betanina e das betaxantinas totais. Foi identificada uma betacianina sazonal, a 2'-O-apiosil betanina, que parece representar grande parte dos teores para betacianinas totais durante o armazenamento. Além disso, foi observada correlação negativa entre os teores de betanina e a atividade de peroxidase, o que reafirma sua ação como principal enzima de oxidação das betacianinas. Em conclusão, a cisteína é eficiente na conservação das características visuais e parece influenciar indiretamente na preservação das betalaínas e, assim, a manutenção da vida útil de beterraba minimamente processada.

Palavras-chave: *Beta vulgaris* L.; Esbranquiçamento; 2'-O-apiosil betanina; Betanina

Abstract

The aim of this work was to determine the efficacy of cysteine for the visual parameters of color and whiteness linked to oxidative stress and degradation of betalains in Boro F1 hybrid red beet fresh-cut. Increasing concentrations of cysteine corresponding to 0.0%, 0.025%, 0.05%, 0.1% and 0.2% were applied during the minimum processing rinse step. Evaluations were performed before processing (day -1) on the day of processing (day 0) and every three days to determine the color parameters (luminosity, hue angle, chromaticity), as well as the progression of the whitening index, concentration of betalains (betacyanins, betaxanthines, betanin), peroxidase activity and correlations between the evaluated parameters. The color parameters were related to tissue rehydration and the higher cysteine dosage, which maintained more intense tones until the end of the storage, as well as the lowest whiteness indexes. Superficial whitening caused by dehydration of the cells and their striatum-like apprehension in the patchwork is enveloped with the hypocotyl anatomy of red beet. Also, whiteness, chromaticity and hue angle were directly correlated to betanin contents. The betalains showed differentiation during storage, and cysteine in its highest concentrations seems to favor the conservation of total betacyanins, but not to betanin and total betaxanthines. A seasonal betacyanine, 2'-O-apiosyl betanin, has been identified, which appears to represent a large proportion of total betacyanin contents during storage. In addition, a negative correlation was observed between betanin contents and peroxidase activity, which reaffirms its action as the main oxidizing enzyme of the betacyanins. In conclusion, cysteine is efficient in the conservation of visual characteristics and seems to influence indirectly the preservation of betalains and thus the maintenance of the shelf-life of fresh-cut red beets.

Keywords: *Beta vulgaris* L.; Whitening; 2'-O-apiosyl betanin; Betanin

3.1. Conclusão

Em conclusão, este trabalho apresentou importante contribuição para o entendimento das relações entre a aplicação de cisteína e os aspectos visuais de beterraba minimamente processada. Em que, demonstrou resultados positivos para a manutenção dos parâmetros de cor e conservação de betalainas, assim como, que a atividade da POD não parece ser diretamente influenciada pela aplicação de cisteína. No entanto, para confirmar a ligação entre cisteína e betacianinas são necessários outros experimentos, que explorem mais a interação molecular entre as duas estruturas, bem como, as condições em que elas podem ou não ocorrer. Portanto, a cisteína é eficiente na manutenção das características visuais e, assim, manutenção da vida útil de beterraba minimamente processada.

Referências

- ALI, H. M. et al. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. **Journal of Food Science and Technology-Mysore**, v. 52, n. 6, p. 3651-3659, 2015.
- ALI, S.; KHAN, A. S.; MALIK, A. U. Postharvest L-cysteine application delayed pericarp browning, suppressed lipid peroxidation and maintained antioxidative activities of litchi fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 121, p. 135-142, 2016.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, A.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**.

Editora UFV: 2006. 438 p.

BOLIN, H. R.; HUXSOLL, C. C. CONTROL OF MINIMALLY PROCESSED CARROT (DAUCUS-CAROTA) SURFACE DISCOLORATION CAUSED BY ABRASION PEELING. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 2, p. 416-418, 1991.

CABEZAS-SERRANO, A. B.; AMODIO, M. L.; COLELLI, G. Effect of solution pH of cysteine-based pre-treatments to prevent browning of fresh-cut artichokes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 75, p. 17-23, 2013.

CENCI, S. **Processamento mínimo e frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. 1. Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. 144 p.

CISNEROS-ZEVALLOS, L.; SALTVEIT, M. E.; KROCHTA, J. M. Mechanism of surface white discoloration of peeled (minimally processed) carrots during storage. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 2, p. 320-328, 1995.

EDELENBOS, M. Preparation and handling of fresh-cut root vegetables. 2016, 1141: International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium. p.77-90.

ESCRIBANO, J. et al. Subcellular localization and isoenzyme pattern of peroxidase and polyphenol oxidase in beet root (*Beta vulgaris* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6123-6129, 2002.

GOMES, M. H. et al. Polyphenoloxidase activity and browning in fresh-cut 'Rocha' pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. **Postharvest Biology and Technology**, v. 91, p. 32-38, 2014.

GONÇALVES, L. C. P. et al. A comparative study of the purification of betanin. **Food chemistry**, v. 131, n. 1, p. 231-238, 2012.

HEMEDA, H. M.; KLEIN, B. P. Effects of Naturally Occurring Antioxidants on Peroxidase Activity of Vegetable Extracts. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 1, p. 184-185, 1990.

HERBACH, K. M.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 6, 2004.

_____. Betalain stability and degradation - Structural and chromatic aspects. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 4, p. R41-R50, 2006.

ISHEEVA, O. D.; PRADEDOVA, E. V.; SALYAEV, R. K. Multiplicity of vacuolar peroxidase isozymes in higher plants by the example of red beet (*Beta vulgaris* L.) roots. **Doklady Biochemistry and Biophysics**, v. 424, n. 1, p. 53-55, 2009.

MARTINEZ-PARRA, J.; MUNOZ, R. Characterization of betacyanin oxidation catalyzed by a peroxidase from *Beta vulgaris* L. roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 4064-4068, 2001.

MARTINEZ-PARRA, J. M.; MUNOZ, R. An approach to the characterization of betanin oxidation catalyzed by horseradish peroxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 2984-2988, 1997.

MORALES, M. et al. Oxidation of flavonols and flavonol glycosides by a hypodermal peroxidase isoenzyme from gamay rouge grape (*Vitis-vinifera*) berries. **Journal of the Science**

of **Food and Agriculture**, v. 62, n. 4, p. 385-391, 1993.

NEELWARNE, B.; HALAGUR, S. B. Red Beet: An Overview. In: NEELWARNE, B. (Ed.). **Red Beet Biotechnology: Food and Pharmaceutical Applications**. Springer, 2013. Cap. 1, p.443.

NEELWARNE, B.; RUDRAPPA, T. Peroxidases and other enzymes from red beet hairy roots. In: (Ed.). **Red Beet Biotechnology: Food and Pharmaceutical Applications**. Springer, 2013. Cap. 12, p.283-334.

PRADEDOVA, E. V.; ISHEEVA, O. D.; SALYAEV, R. K. Antioxidant defense enzymes in cell vacuoles of red beet roots. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 58, n. 1, p. 36-44, 2011.

RICHARD, F. C. et al. Cysteine as an inhibitor of enzymic browning. 1. Isolation and characterization of addition compounds formed during oxidation of phenolics by apple polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 5, p. 841-847, 1991.

RICHARD-FORGET, F. C.; GOUPY, P. M.; NICOLAS, J. J. Cysteine as an inhibitor of enzymic browning. 2. Kinetic studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2108-2113, 1992.

SIMÕES, A. N. et al. Anatomical and physiological evidence of white blush on baby carrot surfaces. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, p. 45-52, 2010.

SLATNAR, A. et al. HPLC-MS(n) identification of betalain profile of different beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) parts and cultivars. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 9, p. 2015.

STINTZING, F. C. et al. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 442-451, 2005.

STINTZING, F. C.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. **European Food Research and Technology**, v. 216, n. 4, p. 303-311, 2003.

TATSUMI, Y.; WATADA, A. E.; WERGIN, W. P. Scanning electron-microscopy of carrot stick surface to determine cause of white translucent appearance. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 5, p. 1357-1359, 1991.

VITTI, M. C. D. et al. Quality of minimally processed beet roots stored in different temperatures. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 48, n. 4, p. 503-510, 2005.

VON ELBE, J. H.; SCHWARTZ, S. J.; HILDENBRAND, B. E. Loss and regeneration of betacyanin pigments during processing of red beets. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 6, p. 1713-1715, 1981.

WASSERMAN, B. P.; EIBERGER, L. L.; GUILFOY, M. P. Effect of hydrogen-peroxide and phenolic-compounds on horseradish peroxidase-catalyzed decolorization of betalain pigments. **Journal of Food Science**, v. 49, n. 2, p. 536-538, 1984.

WYBRANIEC, S. et al. Minor betalains in fruits of *Hylocereus* species. **Phytochemistry**, v. 68, n. 2, p. 251-259, 2007.

_____. Profiles of betacyanins in epidermal layers of grafted and light-stressed cacti studied

4. A APLICAÇÃO DE CISTEÍNA AUXILIA NA CONSERVAÇÃO DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS BIOATIVOS DE BETERRABA MINIMAMENTE PROCESSADA

Resumo

O trabalho objetivou determinar a efetividade da aplicação de cisteína na conservação dos compostos bioativos e na capacidade antioxidante de beterraba vermelha híbrido Boro F1 minimamente processada. Foram aplicadas concentrações crescentes de cisteína correspondendo à 0,0%, 0,025%, 0,05%, 0,1% e 0,2%, durante a etapa de enxágue do processamento mínimo. As avaliações foram realizadas antes do processamento (dia -1), no dia do processamento (dia 0) e a cada três dias para determinar os principais compostos bioativos (polifenóis e betalainas), assim como, sua capacidade antioxidante pelo método ABTS e a atividade enzimática da PPO. A concentração de betalainas apresentou correlação com o aumento da concentração de cisteína, no entanto, quanto maiores as dosagens de cisteína aplicadas, menores os teores de alguns polifenóis individuais, como *p*-coumárico, *trans*-ferúlico, quercetina e ácido clorogênico, que também parecem ser os substratos preferenciais da PPO de beterraba. Estes polifenóis apresentaram correlações negativas com a atividade enzimática. O tratamento com a menor dosagem de cisteína apresentou menor atividade de PPO durante o armazenamento, provavelmente pela inibição enzimática desta faixa de concentração de cisteína aplicada. A capacidade antioxidante em beterraba vermelha é estritamente ligada aos teores de betalainas, uma vez que, a concentração de fenólicos não apresentou correlação com a capacidade antioxidante do extrato fenólico. Em conclusão, a aplicação de cisteína nas concentrações mais altas favorece a conservação dos principais compostos bioativos de beterraba minimamente processada, as betalainas, mantendo sua capacidade antioxidante, mesmo com a alta atividade enzimática. Contudo, a dosagem mais baixa de cisteína 0,025%, favoreceu a conservação dos compostos bioativos, principalmente os polifenóis, manteve a capacidade antioxidante, assim como, foi eficaz na inibição da enzima PPO.

Palavras-chave: Capacidade antioxidante; Polifenóis; Polifenoloxidase; Betalainas

Abstract

The aim of this work was to determine the effectiveness of the application of cysteine in the conservation of bioactive compounds and the antioxidant capacity of minimally processed Boro F1 hybrid red beet. Increasing concentrations of cysteine corresponding to 0.0%, 0.025%, 0.05%, 0.1% and 0.2% were applied during the minimum processing rinse step. Analyses were performed on roots (day -1), with no processing day (day 0) and every three days to determine the main bioactive compounds (polyphenols and betalains), as well as their antioxidant capacity by the ABTS method and the enzymatic activity of PPO. The concentration of betalains showed a correlation with the increase of cysteine concentration. However, the higher the cysteine dosages applied, the lower the levels of some individual polyphenols, such as *p*-coumaric, *trans*-ferulic, quercetin and chlorogenic acid, which also appear to be the preferred PPO substrates for beet. These polyphenols presented negative correlations with the enzymatic activity. Treatment with lower dosage of cysteine showed lower PPO activity during storage, probably due to the enzymatic inhibition of this applied cysteine concentration range. The antioxidant capacity in red beet is strictly linked to the betalain contents, since the phenolic concentration did not correlate with the antioxidant capacity of the phenolic extract. In conclusion, the application of cysteine in the higher concentrations favors the conservation of the main bioactive compounds of minimally processed beets, the betalains, maintaining its antioxidant capacity, even with the high enzymatic activity. However, the lower dosage of cysteine 0.025%

favored the conservation of the bioactive compounds, especially the polyphenols, maintained the antioxidant capacity, as well as, it was effective in inhibiting the PPO enzyme.

Keywords: Antioxidant capacity; Polyphenols, Poliphenoloxidase; Betalains

4.1. Conclusão

Em conclusão, este trabalho apresenta importante contribuição para o entendimento das relações entre as betalaínas e as concentrações de cisteína por meio de aplicação exógena, em que maiores dosagens parecem favorecer as concentrações do pigmento. Da mesma forma, foi demonstrado que independente da diminuição de determinados polifenóis, a atividade antioxidante não é significativamente afetada pela aplicação de cisteína, e que esta capacidade antioxidante está relacionada aos teores de betalaínas. Portanto, a cisteína é eficiente para conservação das propriedades funcionais em beterraba minimamente processada, atendendo aos requisitos de um produto antioxidante para aplicação em alimentos, sendo efetiva em baixas concentrações.

Referências

- ALI, H. M. et al. Structural features, kinetics and SAR study of radical scavenging and antioxidant activities of phenolic and anilinic compounds. **Chemistry Central Journal**, v. 7, 2013.
- _____. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. **Journal of Food Science and Technology-Mysore**, v. 52, n. 6, p. 3651-3659, 2015.
- ALI, S.; KHAN, A. S.; MALIK, A. U. Postharvest L-cysteine application delayed pericarp browning, suppressed lipid peroxidation and maintained antioxidative activities of litchi fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 121, p. 135-142, 2016.
- ALTUNKAYA, A.; GOKMEN, V. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). **Food Chemistry**, v. 107, n. 3, p. 1173-1179, 2008.
- AMIC, D. et al. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. **Croatica Chemica Acta**, v. 76, n. 1, p. 55-61, 2003.
- AMODIO, M. L.; DEROSI, A.; COLELLI, G. Modeling phenolic content during storage of cut fruit and vegetables: A consecutive reaction mechanism. **Journal of Food Engineering**, v. 140, p. 1-8, 2014.
- BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2774-2779, 2001.
- CENCI, S. **Processamento mínimo e frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem**. 1. Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2011. 144 p.

CUYCKENS, F.; CLAEYS, M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 39, n. 1, p. 1-15, 2004.

CZAPSKI, J.; MIKOŁAJCZYK, K.; KACZMAREK, M. Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalain pigments. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 59, n. 2, 2009.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMENEZ, A. R.; PAREDES-LOPEZ, O. Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains - Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173-289, 2000.

DUGAS, A. J. et al. Evaluation of the total peroxy radical-scavenging capacity of flavonoids: Structure-activity relationships. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 3, p. 327-331, 2000.

ESATBEYOGLU, T. et al. Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: Electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 73, p. 119-126, 2014.

ESCRIBANO, J. et al. Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. **Phytochemical Analysis**, v. 9, n. 3, p. 124-127, 1998.

FRIEDMAN, M. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 1523-1540, 1997.

GANDIA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCIA-CARMONA, F. The Role of Phenolic Hydroxy Groups in the Free Radical Scavenging Activity of Betalains. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 6, p. 1142-1146, 2009.

_____. Structural implications on color, fluorescence, and antiradical activity in betalains. **Planta**, v. 232, n. 2, p. 449-460, 2010.

GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W. S. The effect of pH treatment and refrigerated storage on natural colourant preparations (betacyanins) from red pitahaya and their potential application in yoghurt. **LWT-Food Science and Technology**, v. 80, p. 437-445, 2017.

GEORGIEV, V. G. et al. Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit Dark Red. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, n. 2, p. 105-111, 2010.

GINER, J. et al. Effects of pulsed electric field processing on apple and pear polyphenoloxidases. **Food Science and Technology International**, v. 7, n. 4, p. 339-345, 2001.

GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A.; SZYMUSIAK, H.; MALINOWSKA, P. Betanin, the main pigment of red beet: Molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. **Food Additives and Contaminants**, v. 23, n. 11, p. 1079-1087, 2006.

GOMES, M. H. et al. Polyphenoloxidase activity and browning in fresh-cut 'Rocha' pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. **Postharvest Biology and Technology**, v. 91, p. 32-38, 2014.

GRAF, E. Antioxidant potential of ferulic acid. **Free Radic Biol Med**, v. 13, n. 4, p. 435-48, Oct 1992.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry,

metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572-584, 2002.

KANNER, J.; HAREL, S.; GRANIT, R. Betalains - A new class of dietary cationized antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5178-5185, 2001.

KAZIMIERCZAK, R. et al. Beetroot (*Beta vulgaris* L.) and naturally fermented beetroot juices from organic and conventional production: metabolomics, antioxidant levels and anticancer activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 13, p. 2618-2629, 2014.

KOROLEVA, O. et al. Evaluation of the Antiradical Properties of Phenolic Acids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 9, p. 16351-16380, 2014.

KUJALA, T. S. et al. Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: Distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5338-5342, 2000.

_____. Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. **European Food Research and Technology**, v. 214, n. 6, p. 505-510, 2002.

LEE, C. Y.; WHITAKER, J. R. **Enzymatic browning and its prevention**. ACS Publications, 1995.

LOUIE, G. V. et al. Structural determinants and modulation of substrate specificity in phenylalanine-tyrosine ammonia-lyases. **Chem Biol**, v. 13, n. 12, p. 1327-38, 2006.

MATTILA, P.; HELLSTROM, J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3-4, p. 152-160, 2007.

MIKOLAJCZYK-BATOR, K.; CZAPSKI, J. Effect of pH Changes on Antioxidant Capacity and the Content of Betalain Pigments During the Heating of a Solution of Red Beet Betalains. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 67, n. 2, p. 123-128, 2017.

MISHRA, B. B.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Free phenolics and polyphenol oxidase (PPO): The factors affecting post-cut browning in eggplant (*Solanum melongena*). **Food Chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 105-114, 2013.

PANNALA, A. S. et al. Flavonoid B-Ring Chemistry and Antioxidant Activity: Fast Reaction Kinetics. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 282, n. 5, p. 1161-1168, 2001.

PATI, S. et al. Characterization of caffeic acid enzymatic oxidation by-products by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1102, n. 1, p. 184-192, 2006.

PEDREÑO, M. A.; ESCRIBANO, J. Studying the oxidation and the antiradical activity of betalain from beetroot. **Journal of Biological Education**, v. 35, n. 1, p. 49-51, 2000.

_____. Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta vulgaris* L roots under different pH, temperature and light conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 7, p. 627-631, 2001.

PEDREÑO, M. A.; ESCRIBANO, J. Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta vulgaris* L roots under different pH, temperature and light conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 7, p. 627-631, 2001

- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.
- RAVICHANDRAN, K. et al. The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 16-20, 2012.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.
- RICHARD, F. C. et al. Cysteine as an inhibitor of enzymic browning. 1. Isolation and characterization of addition compounds formed during oxidation of phenolics by apple polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 5, p. 841-847, 1991.
- RICHARD-FORGET, F. C.; GOUPY, P. M.; NICOLAS, J. J. Cysteine as an inhibitor of enzymic browning. 2. Kinetic studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2108-2113, 1992.
- SAKIHAMA, Y. et al. Beetroot betalain inhibits peroxynitrite-mediated tyrosine nitration and DNA strand cleavage. **Free Radical Research**, v. 46, n. 1, p. 93-99, 2012.
- SAVIC, S.; KECKES, S.; PETRONIJEVIC, Z. Modification of quercetin with l-cysteine by horseradish peroxidase. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 34, n. 5, p. 226-235, 2016.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144, 1965.
- STINTZING, F. C. et al. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 442-451, 2005.
- STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v. 62, n. 3, p. 247-269, 2003.
- TESORIERE, L. et al. Betacyanins as phenol antioxidants. Chemistry and mechanistic aspects of the lipoperoxyl radical-scavenging activity in solution and liposomes. **Free Radical Research**, v. 43, n. 8, p. 706-717, 2009.
- TORTOE, C.; ORCHARD, J.; BEEZER, A. Prevention of enzymatic browning of apple cylinders using different solutions. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, n. 12, p. 1475-1481, 2007.
- URBANIĄK, A.; SZELAŃ, M.; MOLSKI, M. Theoretical investigation of stereochemistry and solvent influence on antioxidant activity of ferulic acid. **Computational and Theoretical Chemistry**, v. 1012, p. 33-40, 2013.
- VAN ACKER, S. A. B. E. et al. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 3, p. 331-342, 1996.

VON ELBE, J. H.; SCHWARTZ, S. J.; HILDENBRAND, B. E. Loss and regeneration of betacyanin pigments during processing of red beets. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 6, p. 1713-1715, 1981.

WATTS, K. T. et al. Discovery of a Substrate Selectivity Switch in Tyrosine Ammonia-Lyase, a Member of the Aromatic Amino Acid Lyase Family. **Chemistry & Biology**, v. 13, n. 12, p. 1317-1326, 2006.

WEAVER, L. M.; HERRMANN, K. M. Dynamics of the shikimate pathway in plants. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 9, p. 346-351,

WRUSS, J. et al. Compositional characteristics of commercial beetroot products and beetroot juice prepared from seven beetroot varieties grown in Upper Austria. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 42, p. 46-55, 2015.

YEN, G. C.; DUH, P. D.; TSAI, H. L. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. **Food Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 307-313, 2002.