

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

**Aditivos na redução de oxidação enzimática em beterraba minimamente processada**

**Allan Patrick de Abreu Vieira**

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

**Piracicaba  
2018**

**Allan Patrick de Abreu Vieira**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Aditivos na redução de oxidação enzimática em beterraba minimamente  
processada**

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

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

**Piracicaba**  
2018

## RESUMO

### Aditivos na redução de oxidação enzimática em beterraba minimamente processada

O esbranquiçamento é o principal problema pós-colheita em beterraba minimamente processada. Esse problema consiste no ressecamento das células superficiais do produto, resultando no aspecto esbranquiçado decorrente do bloqueio das células túrgidas e íntegras das camadas inferiores. As etapas de corte e a manipulação durante o preparo dos produtos minimamente processados (PMPs) podem ser consideradas fonte de estresse abiótico, que estimula a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). O acúmulo de EROs provoca alterações bioquímicas e estruturais nas células, ocasionando alterações visuais e nutricionais que afetam diretamente a qualidade comercial. Aditivos alimentares são utilizados para retardar a degradação dos PMPs, mantendo-os frescos e adequados para o consumo por mais tempo. Ácidos orgânicos e aminoácidos são aditivos do tipo *GRAS* (*Generally recognized as safe*), ou seja, seguros para alimentos e são amplamente utilizados em produtos hortícolas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da arginina no controle do esbranquiçamento em beterraba minimamente processada e comparar com os demais aditivos utilizados comercialmente. Desse modo inicialmente foi determinada a combinação mais eficaz de dose e pH de aplicação da arginina, com avaliação de quatro doses (0, 10, 25 e 50 mM) combinadas com três faixas de pH (inalterado, pH 6,0 e pH 7,0). A aplicação de arginina apresenta resultados promissores em relação ao retardo do esbranquiçamento em beterraba minimamente processada, principalmente para o tratamento com 25 mM de arginina em pH 7,0. Além disso, esse tratamento também reduz a atividade respiratória, atividade de enzimas oxidativas (POD e PPO) e promove a manutenção de compostos bioativos importantes para a hortaliça (*Betalaínas*, compostos fenólicos e flavonoides) por 12 dias após o processamento. Na segunda etapa, quatro aditivos (arginina, cisteína, ácido cítrico e ácido ascórbico) e água destilada, como tratamento controle, foram comparados quanto à eficácia na conservação de beterrabas minimamente processadas. O tratamento com arginina promove os melhores resultados quanto a manutenção do aspecto visual e de compostos bioativos em relação aos demais aditivos. O modo de ação diferenciado da arginina favorece a redução do estresse oxidativo, estendendo a vida útil do produto.

**Palavras-chave:** *Beta vulgaris* L., processamento mínimo, esbranquiçamento, arginina

## **ABSTRACT**

### **Additives in the reduction of enzymatic oxidation in minimally processed red beet**

White blush is the main postharvest issue in minimally processed red beet. This issue consists in dehydration of superficial cell layers of the product, resulting in a whitening aspect caused by the blockage of turgid and intact cells on the layers below. During the minimal processing preparation, cutting and manipulation of minimally processed products (MPPs) are considered source of abiotic stress, which induce the formation of reactive oxygen species (ROS). The accumulation of ROS causes biochemical and structural changes that directly affects the commercial quality. Food additives are used to slow the degradation of MPPs by keeping them fresh and suitable for consumption. Organic acids and amino acids are GRAS (Generally recognized as safe) additives widely used in vegetables. This study aimed to evaluate the efficacy of arginine in controlling white blush in minimally processed redbeet and compare with additives used commercially. Thus, initially it was determined the best combination of four doses of arginine (0, 10, 25 and 50 mM) with three pH ranges (unchanged, pH 6,0 and pH 7,0). Arginine treatment presents promising results regarding the white blush delay in minimally processed redbeet. In addition, this additive also reduces the respiratory activity, activity of oxidative enzymes (POD and PPO) and maintains the important bioactive compounds (betalains, phenolic compounds and flavonols) for 12 days after processing. In the second step, four additives (arginine, cysteine, citric acid and ascorbic acid) and distilled water, as control treatment, were compared for efficacy in conservation of minimally processed beets. Arginine treatment promotes the best results regarding the maintenance of the visual aspect and bioactive compounds content in relation to the other additives. The different mode of action of arginine favors the reduction of oxidative stress, extending the shelf life of the product.

**Keywords:** *Beta vulgaris* L., minimal processing, White blush, arginine

## **1. INTRODUÇÃO GERAL**

A beterraba (*Beta vulgaris* L.) é uma hortaliça tuberosa pertencente à família botânica Quenopodiaceae, originária de regiões temperadas da Europa e Norte da África (Filgueira, 2008). Essa cultura apresenta diversas aptidões, dependendo do biotipo e da região em que é cultivada. No Brasil, a beterraba olerácea é predominante sobre os demais biotipos, tendo como principal representante a beterraba vermelha, caracterizada pela sua coloração púrpura e elevado valor nutricional. Além do hipocótilo intumescido (popularmente conhecido como raiz), as folhas da beterraba também podem ser utilizadas na alimentação humana, sendo fonte de ferro, sódio, potássio, vitamina A e do complexo B (Tivelli *et al.*, 2011).

O consumo de beterraba está atrelado principalmente ao seu aspecto nutricional, uma vez que é um dos poucos produtos acessíveis fonte de betalaínas. As betalaínas são compostos hidrossolúveis responsáveis pela cor e função antioxidante das beterrabas (Gonçalves *et al.*, 2015). A ingestão frequente de beterraba pode melhorar a proteção contra radicais livres combatendo doenças vinculadas ao estresse oxidativo, como doenças cardiovasculares e até mesmo alguns tipos de câncer (Gengatharan *et al.*, 2015; Sawicki e Wiczkowski, 2018).

Recentemente, a busca por alimentação saudável aliada à praticidade e comodidade vem se tornando uma das principais preocupações da sociedade moderna (Buckley *et al.*, 2007). Nesse contexto, o processamento mínimo de frutas e hortaliças está se destacando como uma alternativa para alimentação prática e saudável. Conceitualmente o produto minimamente processado é aquele que sofreu algum tipo de processo físico, alterando a sua forma de apresentação, mas sobretudo mantendo seu aspecto fresco e metabolicamente ativo (Moretti, 2007).

Apesar das vantagens do processamento mínimo, esses produtos apresentam menor tempo de vida útil quando comparado aos produtos inteiros devido ao estresse a que são submetidos nas etapas do processamento, e também por conta da maior área de exposição. A perda de qualidade e valor nutricional estão relacionados ao estresse, causando alterações como escurecimento enzimático, deterioração microbiana, descoloração da superfície e a senescência causada pelo aumento da taxa respiratória e da produção de etileno (Cenci, 2011).

Durante o preparo dos produtos minimamente processados, algumas etapas como o descascamento e o corte podem ser consideradas fontes de estresse abiótico, o

que resulta na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) como moléculas sinalizadoras de estresse (Toivonen, 2004; Hossain *et al.*, 2015). O acúmulo de EROS pode causar danos a biomoléculas, como lipídeos, proteínas e DNA (Das e Roychoudhury, 2014). As EROS e seus efeitos sobre os produtos minimamente processados podem alterar o aspecto visual e as propriedades nutricionais e funcionais, resultando em produtos inadequados para o consumo e comercialização.

No caso da beterraba minimamente processada, o principal problema que causa depreciação do produto é o esbranquiçamento. O esbranquiçamento afeta principalmente as camadas superficiais dos produtos, podendo ser reversível por meio de hidratação, dependendo do grau de severidade. Este problema é resultado de células danificadas e desidratadas, resíduos de parede celular e de protoplasma que formam um bloqueio físico das células preservadas e hidratadas nas camadas inferiores. (Simões *et al.*, 2010). A alteração de cor é um problema recorrente a vários produtos minimamente processados e muitas vezes está relacionado com vias de oxidação enzimática, causando a formação de compostos escuros, degradação de clorofila e o esbranquiçamento (Toivonen e Brummell, 2008).

A aplicação de aditivos em produtos minimamente processados com a finalidade de preservar seu frescor e qualidade nutricional tem sido muito estudada (Moretti, 2007). Os aditivos podem atuar na inibição da atividade das enzimas oxidativas, seja pela inativação dessas enzimas ou pela transformação e complexação dos substratos (Garcia e Barrett, 2002). A eficácia dos aditivos pode variar de acordo com as suas propriedades, funcionando como antioxidantes (ácido ascórbico e cisteína), agentes quelantes (ácido cítrico e EDTA), acidificantes (ácidos orgânicos), ou agindo de outra forma como os óleos essenciais (Rico *et al.*, 2007; Ioannou, 2013).

Alguns aditivos como ácido cítrico (AC) e ácido ascórbico (AA) já são amplamente estudados e aplicados na agroindústria como conservantes e agentes antioxidantes. Outros aditivos menos utilizados, como os aminoácidos, também são compostos com características interessantes para preservação de produtos frescos. Os aminoácidos são aditivos GRAS (*Generally recognized as safe*), ou seja, considerados seguros para alimentos. Cisteína e arginina, por exemplo, são aminoácidos com modos de ação diferentes que podem contribuir para redução de escurecimento enzimático e estresse (Ali, *et al.*, 2016; Wills e Li, 2016). A cisteína é um composto sulfurado que reage com as *o*-quinonas, formando adutos incolores e inibindo a ação da POD e PPO (Richard-Forget *et al.*, 1992). A arginina é um aminoácido precursor de compostos anti-

estresse e anti-senescência, como as poliaminas (PA) e o óxido nítrico (NO) (Morris, 2007). Baseado na tendência de aplicação de aminoácidos em produtos minimamente processados e na sua eficácia em relação ao estresse oxidativo, foi proposto avaliar o efeito da arginina em beterraba minimamente processada com o objetivo de inibir a oxidação enzimática e reduzir o principal problema deste produto, que é o esbranquiçamento. Após determinar as condições favoráveis de aplicação da arginina, avaliamos a eficácia de outros aditivos comumente utilizados na indústria de processamento mínimo comparados com a da arginina.

## REFERÊNCIAS

- ALI, H. M. et al. The role of various amino acids in enzymatic browning process in potato tubers, and identifying the browning products. **Food chemistry**, v. 192, p. 879-885, 2016. ISSN 0308-8146.
- BUCKLEY, M.; COWAN, C.; MCCARTHY, M. The convenience food market in Great Britain: Convenience food lifestyle (CFL) segments. **Appetite**, v. 49, n. 3, p. 600-617, 2007. ISSN 0195-6663.
- CENCI, S. A. Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem. **Rio de Janeiro: EMBRAPA**, 2011.
- DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 53, 2014. ISSN 2296-665X.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: Viçosa Editora da UFV, 2008.
- GARCIA, E.; BARRETT, D. M. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. **Fresh-Cut Fruits and Vegetables**. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 267-304, 2002.
- GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W. S. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 645-649, 2015. ISSN 0023-6438.
- GONÇALVES, L. C. P. Betalaínas das cores das beterrabas à fluorescência das flores. Niterói, 2015.
- HOSSAIN, M. A. et al. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. 420, 2015-June-16 2015. ISSN 1664-462X. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2015.00420>>.
- IOANNOU, I. Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. **European Scientific Journal, ESJ**, v. 9, n. 30, 2013. ISSN 1857-7431.
- MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Brasília Embrapa Hortaliças, 2007.
- MORRIS, S. M. Arginine metabolism: boundaries of our knowledge. **The Journal of nutrition**, v. 137, n. 6 Suppl 2, p. 1602S, 2007. ISSN 0022-3166.

- RICHARD-FORGET, F. C.; GOUZY, 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. ISSN 0021-8561.
- 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. ISSN 0924-2244.
- SAWICKI, T.; WICZKOWSKI, W. The effects of boiling and fermentation on betalain profiles and antioxidant capacities of red beetroot products. **Food chemistry**, v. 259, p. 292-303, 2018. ISSN 0308-8146.
- SIMÕES, A. D. N. et al. Anatomical and physiological evidence of white blush on baby carrot surfaces. **Postharvest biology and technology**, v. 55, n. 1, p. 45-52, 2010. ISSN 0925-5214.
- TIVELLI, S. W. et al. **BETERRABA: DO PLANTIO À COMERCIALIZAÇÃO**. CAMPINAS: INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC). 210: 45 p. 2011.
- TOIVONEN, P. M.; BRUMMELL, D. A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 1-14, 2008. ISSN 0925-5214.
- TOIVONEN, P. M. A. Postharvest Storage Procedures and Oxidative Stress. **HortScience**, v. 39, n. 5, p. 938-942, 2004.
- WILLS, R. B. H.; LI, Y. Use of arginine to inhibit browning on fresh cut apple and lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 113, p. 66-68, 3// 2016. ISSN 0925-5214. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521415301678> >.

## **2. ARGININA REDUZ ESTRESSE OXIDATIVO EM BETERRABA MINIMAMENTE PROCESSADA**

### **RESUMO**

A busca por aditivos alimentares seguros que auxiliam no combate do estresse oxidativo em produtos minimamente processados (PMPs) é objeto de interesse para pesquisas e empresas do setor. Entre os aditivos estudados recentemente, os aminoácidos podem ser destacados por apresentarem resultados satisfatórios e promissores. A arginina é um aminoácido que participa da via metabólica das poliaminas (PAs), do óxido nítrico (NO) e prolina, que são agentes anti-estresse e anti-senescente. A arginina foi aplicada em beterraba minimamente processada para avaliação da sua eficácia sobre o esbranquiçamento, ou *white blush*, que é o principal problema observado no produto. O objetivo do trabalho foi determinar a dose de arginina combinada com o pH mais adequado de aplicação em beterraba ralada, visando a redução do estresse oxidativo. Os tratamentos consistiram em combinações de quatro doses (0, 10, 25 e 50 mM de arginina) e três faixas de pH (sem alteração, pH 6,0 e pH 7,0), totalizando 12 tratamentos. As análises foram realizadas a cada três dias por 12 dias (dias 0, 3, 6, 9 e 12). Os tratamentos sem arginina apresentaram desenvolvimento do esbranquiçamento mais acelerado, além de maior taxa respiratória e atividade da POD e PPO. Os tratamentos com a menor e maior dose de arginina não foram eficazes no controle do esbranquiçamento, mas reduziram a atividade da POD e PPO. A taxa respiratória foi mais elevada para os tratamentos com 50 mM de arginina. A dose mais eficaz para preservação das características visuais da beterraba minimamente processada foi de 25 mM de arginina quando combinada com pH de aplicação igual a 7,0. Beterrabas tratadas com as maiores doses de arginina (25 e 50 mM) apresentaram estabilidade nos teores de compostos bioativos (betaína, compostos fenólicos, flavonoides totais) e na capacidade antioxidante. A arginina foi eficaz no controle do esbranquiçamento em beterraba minimamente processada aplicada na concentração de 25 mM e com ajuste do pH para 7,0.

**Palavras-chave:** *Beta vulgaris* L., esbranquiçamento, aminoácido, processamento mínimo

## ABSTRACT

Food additives that are safe and can prevent oxidative stress in minimally processed products (MPPs) is of interest to researches and food industry. Among additives studied recently, amino acids can be highlighted by presenting satisfying and promising results. Arginine is a amino acid that plays a role in the metabolic pathways of polyamines (PAs), nitric oxide (NO) and proline, which are anti-stress and anti-senescence agents. Arginine was applied in minimally processed red beet in order to evaluate its effectiveness on white blush development, which is the main problem observed in the product. The purpose of this study is to determine the dose of arginine combined with the best pH of application in grated red beet, aiming at the reduction of oxidative stress. Treatments consisted of combinations of four doses (0, 10, 25 and 50 mM of arginine) and three pHs (unchanged, pH 6,0 and pH 7,0), totalling 12 treatments. Analysis were performed each three days for 12 days (days 0, 3, 6, 9 and 12). Beets without arginine presented a more accelerated development of whitening, besides the higher respiratory rate and an increase of POD and PPO activity during storage. Beets treated with 10 and 50 mM of arginine were not effective in controlling whitening, but they showed reduced POD and PPO activities. Respiratory rate was higher for beets treated with 50 mM of arginine. The most effective treatment for the preservation of visual characteristics of minimally processed beets was 25 mM of arginine combined with pH 7,0. Bioactive compounds content (betalains, phenolic compounds and total flavonols) and antioxidant capacity were kept stable during storage for beets treated with higher doses of arginine (25 and 50 mM). Arginine was effective in controlling white blush development in minimally processed red beet when applied at a concentration of 25 mM with pH adjustment to 7,0.

**Key-words:** *Beta vulgaris* L., white blush, amino acid, minimally processed

### 2.1. CONCLUSÃO

A combinação dose de arginina e pH mais eficaz que permitiu redução do esbranquiçamento e do estresse oxidativo em beterraba minimamente processada foi de 25 mM e pH 7,0. Este tratamento permitiu manter a vida útil do produto por até 12 dias após o processamento, enquanto que as beterrabas sem arginina ficaram viáveis até o terceiro dia após o processamento. Além do aspecto visual, que é de extrema importância na decisão de compra, os atributos nutricionais foram preservados e a atividade das enzimas POD e PPO foram reduzidas, indicando que o produto se manteve menos estressado durante o armazenamento. As demais doses de arginina promoveram resultados melhores que os tratamentos sem o aminoácido, mas não foram tão eficazes quanto essa combinação dose-pH.

## REFERÊNCIAS

- ALCÁZAR, R. et al. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. **Biotechnology letters**, v. 28, n. 23, p. 1867-1876, 2006. ISSN 0141-5492.
- ALI, H. M. et al. The role of various amino acids in enzymatic browning process in potato tubers, and identifying the browning products. **Food chemistry**, v. 192, p. 879-885, 2016. ISSN 0308-8146.
- ARTS, M. J. T. J. et al. A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. **Food Chemistry**, v. 88, n. 4, p. 567-570, 2004. ISSN 0308-8146.
- BABALAR, M. et al. Arginine treatment attenuates chilling injury of pomegranate fruit during cold storage by enhancing antioxidant system activity. **Postharvest Biology and Technology**, v. 137, p. 31-37, 2018. ISSN 0925-5214.
- BARMAN, K. et al. Nitric oxide reduces pericarp browning and preserves bioactive antioxidants in litchi. **Scientia Horticulturae**, v. 171, p. 71-77, 2014. ISSN 0304-4238.
- BERG, R. V. D. et al. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. **Food Chemistry**, v. 66, n. 4, p. 511-517, 1999. ISSN 0308-8146.
- BOREK, S. et al. Metabolism of amino acids in germinating yellow lupin seeds III. Breakdown of arginine in sugar-starved organs cultivated in vitro. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 23, n. 2, p. 141-148, 2001. ISSN 0137-5881.
- BOUN, H.; HUXSOLL, 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. ISSN 1750-3841.
- CENCI, S. A. Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem. **Rio de Janeiro: EMBRAPA**, 2011.
- CHANDRA, D. et al. Physicochemical, microbial and sensory quality of fresh-cut red beetroots in relation to sanitization method and storage duration. **Italian Journal of Food Science**, v. 27, n. 2, p. 208, 2015. ISSN 1120-1770.
- DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 53, 2014. ISSN 2296-665X.
- DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and experimental botany**, v. 109, p. 212-228, 2015. ISSN 0098-8472
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956. ISSN 0003-2700.
- FLORES, F. B. et al. Effects of a pretreatment with nitric oxide on peach (*Prunus persica* L.) storage at room temperature. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 6, p. 1599, 2008. ISSN 1438-2377.
- GENGATHARAN, A.; DYKES, G. A.; CHOO, W. S. Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 645-649, 2015. ISSN 0023-6438.
- 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. ISSN 1082-0132.

- HEMEDA, H. M.; KLEIN, B. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 1, p. 184-185, 1990. ISSN 0022-1147.
- 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**, v. 48, n. 2, p. 155-162, 2008. ISSN 0925-5214.
- HOSSAIN, M. A. et al. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. 420, 2015-June-16 2015. ISSN 1664-462X. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2015.00420>>.
- IOANNOU, I. Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. **European Scientific Journal, ESJ**, v. 9, n. 30, 2013. ISSN 1857-7431.
- KENTER, C.; HOFFMANN, C. M. Changes in the processing quality of sugar beet (*Beta vulgaris L.*) during long-term storage under controlled conditions. **International journal of food science & technology**, v. 44, n. 5, p. 910-917, 2009. ISSN 0950-5423.
- KLOTZ, K. L.; HAAGENSON, D. M. Wounding, anoxia and cold induce sugarbeet sucrose synthase transcriptional changes that are unrelated to protein expression and activity. **Journal of plant physiology**, v. 165, n. 4, p. 423-434, 2008. ISSN 0176-1617.
- 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. ISSN 1678-4596.
- KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.
- LAMIKANRA, O. **Fresh-cut fruits and vegetables science, technology, and market**. Boca Raton, Fla. Boca Raton, Fla: Boca Raton, Fla. : CRC Press, 2002.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortiscience**, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.
- LI, X. P. et al. Effects of nitric oxide on postharvest quality and soluble sugar content in papaya fruit during ripening. **Journal of food processing and preservation**, v. 38, n. 1, p. 591-599, 2014. ISSN 1745-4549.
- MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Brasília Embrapa Hortalícias, 2007.
- MORRIS, S. M. Arginine metabolism: boundaries of our knowledge. **The Journal of nutrition**, v. 137, n. 6 Suppl 2, p. 1602S, 2007. ISSN 0022-3166.
- NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **J. biol. Chem**, v. 153, n. 2, p. 375-380, 1944.
- NOTTINGHAM, S. **Beetroot** 2004.
- PÁL, M.; SZALAI, G.; JANDA, T. Speculation: polyamines are important in abiotic stress signaling. **Plant Science**, v. 237, p. 16-23, 2015. ISSN 0168-9452.
- PICOLI, A. A. et al. Avaliação de biorreguladores no metabolismo secundário de beterrabas inteiras e minimamente processadas. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p. 983-988, 2010. ISSN 1678-4499.
- PRADEDOVA, E.; ISHEEVA, O.; SALYAEV, R. Antioxidant defense enzymes in cell vacuoles of red beet roots. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 58, n. 1, p. 36-44, 2011. ISSN 1021-4437.

- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999. ISSN 0891-5849.
- REN, Y. et al. Nitric oxide alleviates deterioration and preserves antioxidant properties in 'Tainong' mango fruit during ripening. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 58, n. 1, p. 27-37, 2017. ISSN 2211-3452.
- 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. ISSN 0924-2244.
- SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, 2010. ISSN 1676-546X.
- SIMÕES, A. D. N. et al. Anatomical and physiological evidence of white blush on baby carrot surfaces. **Postharvest biology and technology**, v. 55, n. 1, p. 45-52, 2010. ISSN 0925-5214.
- 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. 144-158, 1965. ISSN 0002-9254.
- SOLIVA-FORTUNY, R. C.; MARTÍN-BELLOSO, O. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 9, p. 341-353, 2003. ISSN 0924-2244.
- SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. **Journal of biological chemistry**, v. 195, p. 19-23, 1952. ISSN 0021-9258.
- STINTZING, F. C. et al. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. **Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones**, v. 53, n. 2, p. 442-451, 2005. ISSN 0021-8561.
- TIVELLI, S. W. et al. **BETERRABA: DO PLANTIO À COMERCIALIZAÇÃO**. CAMPINAS: INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC). 210: 45 p. 2011.
- TOIVONEN, P. M.; BRUMMELL, D. A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 1-14, 2008. ISSN 0925-5214.
- TOIVONEN, P. M. A. Postharvest Storage Procedures and Oxidative Stress. **HortScience**, v. 39, n. 5, p. 938-942, 2004.
- VITTI, M. C. D. **Aspectos fisiológicos, bioquímicos e microbiológicos em beterrabas minimamente processadas**. 2003. Piracicaba.
- WANG, X. et al. Effect of postharvest l-arginine or cholesterol treatment on the quality of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.) spears during low temperature storage. **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 788-794, 2017. ISSN 0304-4238.
- WATADA, A. E.; KO, N. P.; MINOTT, D. A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, n. 2, p. 115-125, 1996. ISSN 0925-5214.
- WILLS, R. B. Potential of Nitric Oxide as a Postharvest Technology. In: (Ed.). **Advances in Postharvest Fruit and Vegetable Technology**: CRC Press Boca Raton, FL, 2015. p.191-210.

- WILLS, R. B. H.; LI, Y. Use of arginine to inhibit browning on fresh cut apple and lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 113, p. 66-68, 3// 2016. ISSN 0925-5214. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521415301678> >.
- WINTER, G. et al. Physiological implications of arginine metabolism in plants. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 534, 2015. ISSN 1664-462X.
- ZHANG, X. et al. Amelioration of chilling stress by arginine in tomato fruit: Changes in endogenous arginine catabolism. **Amelioration of chilling stress by arginine in tomato fruit: Changes in endogenous arginine catabolism**, v. 76, p. 106-111, 2013. ISSN 0925-5214.
- ZHOU, T. et al. Determination of acceptability and shelf life of ready-to-use lettuce by digital image analysis. **Food research international**, v. 37, n. 9, p. 875-881, 2004. ISSN 0963-9969.
- ŽITŇANOVÁ, I. et al. Antioxidative activity of selected fruits and vegetables. **Biologia**, v. 61, n. 3, p. 279-284, 2006. ISSN 1336-9563.

### **3. ARGININA REDUZ OXIDAÇÃO ENZIMÁTICA E PRESERVA QUALIDADE VISUAL E COMPOSTOS BIOATIVOS DE BETERRABAS MINIMAMENTE PROCESSADAS**

#### **RESUMO**

Aditivos são utilizados em produtos minimamente processados com a finalidade de reduzir danos gerados pelo estresse do processamento mínimo. Porém, cada aditivo apresenta um modo de ação e efeitos diferentes sobre os produtos. Ácidos orgânicos e aminoácidos podem ser utilizados para estender a vida útil desses produtos. O objetivo do trabalho foi comparar os efeitos de diferentes aditivos utilizados em beterraba minimamente processada visando principalmente a redução de oxidação enzimática e conservação dos aspectos visuais e de compostos bioativos do produto. Foram aplicados quatro aditivos do tipo *GRAS* (*Generally reconized as safe*) que, considerados seguros para alimentos, na etapa de enxágue no fluxograma de processamento mínimo. Os tratamentos consistiram em: enxágue em água destilada (controle), solução de arginina (25 mM e pH 7,0), solução de cisteína (8 mM), ácido cítrico (2000 mg L<sup>-1</sup>) e ácido ascórbico (2000 mg L<sup>-1</sup>). Os produtos foram acondicionados em bandejas de poliestireno expandido, embalados com filme de PVC 14 µm e armazenados a 5°C e 90% UR. As avaliações foram realizadas a cada três dias, por 12 dias. A aplicação de arginina manteve as características visuais da beterraba minimamente processada por período maior em relação aos demais aditivos. Além disso, promoveu redução da taxa respiratória e da atividade das enzimas PPO e POD. A arginina é precursora de agentes anti-estresse e anti-senescênciia que contribuem para a manutenção da integridade das membranas. Com isso, a redução de radicais livres e estímulo do mecanismo de defesa contribuíram para manutenção do aspecto visual e de compostos bioativos do produto. Os demais aditivos aplicados não foram eficazes na conservação das propriedades físicas e bioquímicas do produto por período prolongado. Em conclusão, a aplicação de arginina na dose 25 mM e pH 7,0 foi a mais eficaz no controle de oxidação enzimática e conservação de beterraba minimamente processada por 12 dias.

**Palavras-chave:** *Beta vulgaris* L., esbranquiçamento, arginina, cisteína, ácido cítrico e ácido ascórbico

## ABSTRACT

Additives are applied in minimally processed products for the purpose of reducing damage generated by stress of minimal processing. However, each additive has a different mode of action and promotes different effects on the products. Organic acids and amino acids can be applied in order to extend the shelf live of these products. This work aimed to compare the effects of different additives applied on minimally processed red beet in order to reduce enzymatic oxidation and conservation of visual aspects and bioactive compounds of the product. Four GRAS type additives were applied during the washing stage of the minimal processing flowchart. Treatments consisted of: distilled water (control), arginine solution (25 mM pH 7,0), cysteine solution (8 mM), citric acid solution (2000 mg L<sup>-1</sup>) and ascorbic acid solution (2000 mg L<sup>-1</sup>). Storage was performed at 5°C and 90% RH. The following assessments were carried out every three days for 12 days. Arginine treatment maintained minimally processed red beet visual characteristics for longer than the other treatments. In addition, it promoted reduction of the respiration rate and decreased the activity of PPO and POD enzymes. Arginine is the precursor of anti-stress and anti-senescence agents that contribute to membranes integrity. Hence, free radical reduction and defense mechanism stimulus promoted the maintenance of visual aspects and bioactive compounds of the product. The other treatments were not effective in preserving red beet physical and biochemical properties for an extended period. In conclusion, the application of arginine with 25 mM and pH 7,0 was the most effective to reduce oxidative stress and minimally processed red beet conservation for 12 days.

**Key-words:** *Beta vulgaris* L., white blush, arginine, cysteine, citric acid and ascorbic acid

### **3.1. CONCLUSÃO**

Os aditivos utilizados neste trabalho atuaram de diferentes formas sobre a beterraba minimamente processada. Em relação aos atributos visuais, que são determinantes para avaliar a vida útil do produto, pode-se concluir que a aplicação de arginina na concentração de 25 mM e pH 7,0 é a mais eficaz na redução da oxidação enzimática e promove conservação na qualidade visual e de compostos bioativos em beterrabas minimamente processadas por 12 dias. A aplicação de arginina inibiu a desidratação das camadas superficiais da beterraba, prolongando a vida útil do produto com aspecto visual

### **REFERÊNCIAS**

- ALI, H. et al. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol- cysteine reaction products. **J Food Sci Technol**, New Delhi, v. 52, n. 6, p. 3651-3659, 2015. ISSN 0022-1155.
- 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, 11// 2016. ISSN 0925-5214. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521416301557> >.
- ARTS, M. J. T. J. et al. A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. **Food Chemistry**, v. 88, n. 4, p. 567-570, 2004. ISSN 0308-8146.
- BABALAR, M. et al. Arginine treatment attenuates chilling injury of pomegranate fruit during cold storage by enhancing antioxidant system activity. **Postharvest Biology and Technology**, v. 137, p. 31-37, 2018. ISSN 0925-5214.
- BARMAN, K. et al. Nitric oxide reduces pericarp browning and preserves bioactive antioxidants in litchi. **Scientia Horticulturae**, v. 171, p. 71-77, 2014. ISSN 0304-4238.
- BERG, R. V. D. et al. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity ( TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. **Food Chemistry**, v. 66, n. 4, p. 511-517, 1999. ISSN 0308-8146.
- BOUN, H.; HUXSOLL, 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. ISSN 1750-3841.
- BRECHT, J. K. et al. Alterações metabólicas. In: MORETTI, C. L. (Ed.). **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007. p.41-99.
- CENCI, S. A. Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem. **Rio de Janeiro: EMBRAPA**, 2011.
- DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 53, 2014. ISSN 2296-665X.

- DOMINGOS, P. et al. Nitric oxide: a multitasked signaling gas in plants. **Molecular plant**, v. 8, n. 4, p. 506-520, 2015. ISSN 1674-2052.
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956. ISSN 0003-2700.
- 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. ISSN 0921-9668.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010. ISSN 0981-9428.
- 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. ISSN 1082-0132.
- GONG, T. et al. Advances in application of small molecule compounds for extending the shelf life of perishable horticultural products: A review. **Scientia Horticulturae**, v. 230, p. 25-34, 2018. ISSN 0304-4238.
- HEMEDA, H. M.; KLEIN, B. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 1, p. 184-185, 1990. ISSN 0022-1147.
- 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. ISSN 0022-1147.
- KATO-NOGUCHI, H.; WATADA, A. E. Effects of low-oxygen atmosphere on ethanolic fermentation in fresh-cut carrots. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 122, n. 1, p. 107-111, 1997. ISSN 0003-1062.
- KENTER, C.; HOFFMANN, C. M. Changes in the processing quality of sugar beet (*Beta vulgaris L.*) during long-term storage under controlled conditions. **International journal of food science & technology**, v. 44, n. 5, p. 910-917, 2009. ISSN 0950-5423.
- KLUGE, R. A.; PRECZENHAK, A. P. Betalaínas em beterraba minimamente processada: perdas e formas de preservação. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v. 17, n. 2, p. 175-192, 2016. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/813/81349041005/>>.
- KLUGE, R. A. et al. Respiratory activity and pigment metabolism in fresh-cut beet roots treated with citric acid. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 520-523, 2008. ISSN 0102-0536.
- KÄHKÖNEN, 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. ISSN 0021-8561.
- LAMIKANRA, O. **Fresh-cut fruits and vegetables science, technology, and market**. Boca Raton, Fla. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2002.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analysis in cranberries. **Hortiscience**, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.
- MANJUNATHA, G.; LOKESH, V.; NEELWARNE, B. Nitric oxide in fruit ripening: trends and opportunities. **Biotechnology advances**, v. 28, n. 4, p. 489-499, 2010. ISSN 0734-9750.
- 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**, v. 2, n. 09, p. 956, 2011.

- MCGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992. ISSN 0018-5345.
- MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: Brasília Embrapa Hortalícias, 2007.
- MORRIS, S. M. Arginine metabolism: boundaries of our knowledge. **The Journal of nutrition**, v. 137, n. 6 Suppl 2, p. 1602S, 2007. ISSN 0022-3166.
- NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **J. biol. Chem**, v. 153, n. 2, p. 375-380, 1944.
- OMS-OLIU, G. et al. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. **Postharvest Biology and Technology**, v. 57, n. 3, p. 139-148, 2010. ISSN 0925-5214.
- PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A.-J. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 1, p. 36-60, 2013. ISSN 1935-5130.
- PICOLI, A. A. et al. Avaliação de biorreguladores no metabolismo secundário de beterrabas inteiras e minimamente processadas. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p. 983-988, 2010. ISSN 1678-4499.
- PRADEDOVA, E. et al. Tyrosinase and superoxide dismutase activities of peroxidase in the vacuoles of beet roots. **Russian journal of plant physiology**, v. 61, n. 1, p. 70-79, 2014. ISSN 1021-4437.
- PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005. ISSN 0021-8561.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999. ISSN 0891-5849.
- REN, Y. et al. Nitric oxide alleviates deterioration and preserves antioxidant properties in 'Tainong' mango fruit during ripening. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 58, n. 1, p. 27-37, 2017. ISSN 2211-3452.
- 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. ISSN 0021-8561.
- SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, 2010. ISSN 1676-546X.
- SIMÕES, A. D. N. et al. Anatomical and physiological evidence of white blush on baby carrot surfaces. **Postharvest biology and technology**, v. 55, n. 1, p. 45-52, 2010. ISSN 0925-5214.
- SINGH, S. P.; SINGH, Z.; SWINNY, E. E. Postharvest nitric oxide fumigation delays fruit ripening and alleviates chilling injury during cold storage of Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell). **Postharvest Biology and Technology**, v. 53, n. 3, p. 101-108, 2009. ISSN 0925-5214. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521409000878> >.
- 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. 144-158, 1965. ISSN 0002-9254.

- SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. **Journal of biological chemistry**, v. 195, p. 19-23, 1952. ISSN 0021-9258.
- STINTZING, F. C. et al. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia spp.*) clones. **Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia spp.*) clones**, v. 53, n. 2, p. 442-451, 2005. ISSN 0021-8561.
- TIVELLI, S. W. et al. **BETERRABA: DO PLANTIO À COMERCIALIZAÇÃO**. CAMPINAS: INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC). 210: 45 p. 2011.
- TOIVONEN, P. M. A. Postharvest Storage Procedures and Oxidative Stress. **HortScience**, v. 39, n. 5, p. 938-942, 2004.
- TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 9, p. 853-876, 2001. ISSN 0022-5142.
- VITTI, M. C. D. **Aspectos fisiológicos, bioquímicos e microbiológicos em beterrabas minimamente processadas**. 2003. Piracicaba.
- WANG, X. et al. Effect of postharvest l-arginine or cholesterol treatment on the quality of green asparagus (*Asparagus officinalis L.*) spears during low temperature storage. **Scientia Horticulturae**, v. 225, p. 788-794, 2017. ISSN 0304-4238.
- WILLS, R. B. Potential of Nitric Oxide as a Postharvest Technology. In: (Ed.). **Advances in Postharvest Fruit and Vegetable Technology**: CRC Press Boca Raton, FL, 2015. p.191-210.
- WILLS, R. B. H.; LI, Y. Use of arginine to inhibit browning on fresh cut apple and lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 113, p. 66-68, 3// 2016. ISSN 0925-5214. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521415301678> >.
- ZAHARAH, S. S.; SINGH, Z. Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury, delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored ‘Kensington Pride’ mango. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, n. 3, p. 202-210, 2011. ISSN 0925-5214. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521411000251> >.
- ZHU, S.-H.; ZHOU, J. Effect of nitric oxide on ethylene production in strawberry fruit during storage. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1517-1522, 2007. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605011052> >.