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

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

Vieira, Allan Patrick de Abreu

Aditivos na redução de oxidação enzimática em beterraba minimamente processada / Allan Patrick de Abreu Vieira. - - Piracicaba, 2018.

91 p.

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

1. Aditivos 2. Processamento mínimo 3. Esbranquiçamento 4. *Beta vulgaris* L. I. Título

Dedicatória

Aos meus pais Bárbara e Manoel que sempre me apoiaram nas mais diversas situações. Vocês são a minha base, minha referência, meu porto seguro. Às minhas irmãs Mayara e Jéssica que me ensinaram o significado de partilha, respeito e amor. Ao meu sobrinho Arthur que apesar de tão pequeno já me mostrou o verdadeiro valor das coisas simples da vida.

Sempre a vocês, dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida, pelo amor supremo e pelo direcionamento ao longo desses anos.

Aos meus pais Bárbara e Manoel, por serem responsáveis pela pessoa que me tornei, por acreditarem em mim, pelo exemplo, amor e incentivos.

Às minhas irmãs Mayara e Jéssica pela fraternidade, carinho, risadas, conselhos e momentos de distração.

Ao meu sobrinho Arthur, por me ensinar a amar, pela risada gostosa, pelas brincadeiras e exemplo de superação.

Ao Maicon e Diandra que me acompanharam de perto diariamente nesses últimos meses, compartilhando momentos de ansiedade e nervosismo, mas também dando apoio e suporte necessário para continuar.

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP) pela formação profissional, pelas amizades e oportunidades.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento concedido neste projeto.

Ao Programa de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, pela oportunidade de realização do mestrado, em especial à Solizete por ser sempre eficiente e prestativa todas as vezes que eu precisei.

Ao Departamento de Ciências Biológicas pela infraestrutura e disponibilidade de funcionários e do espaço.

Ao Prof. Dr. Ricardo Alfredo Kluge pela confiança e oportunidade de desenvolver esse projeto, pelas orientações, conselhos e sugestões ao longo desses anos, e também pelas festas e momentos de descontração.

Ao Prof. Dr. Ângelo Pedro Jacomino e a sua equipe pela prestatividade e auxílio nos momentos em que precisei.

À Profa. Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima e sua equipe pela solicitude e suporte sempre que foi necessário.

À Profa. Dra. Taciana Villela Savian pela paciência e ajuda com as análises estatísticas.

Ao Sr. Mishima e colaboradores pela atenção e fornecimento das beterrabas utilizadas neste projeto.

Aos meus amigos do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita: os estagiários Super, Still, Pliê, Quaresma, Tapas, Thomas, Tódi, Remi, Anie, Juliana, Toguepi, Fóbis, Laura, K-nibau, Berranteiro, Dúxa, Lorena, Makiavéu, Bene; e minhas amigas da pós-graduação Ana, Bruna, Choiu, Cris, Isa, Tim, Magda, Malók e Yane. Muito obrigado pela ajuda, amizade, convivência, pelos momentos de descontração e também pelos cafezinhos. Com vocês foi possível conduzir esse projeto com eficácia de modo mais leve e agradável.

Aos meus amigos de infância (Toxi), amigos do intercâmbio (Flat C2.3), amigos da ESALQ muito obrigado por entenderem quando estive ausente, obrigado também pela boa conversa, convivência fora do mundo acadêmico, sonhos e conquistas compartilhados, muitas risadas e diversão. Vocês foram fundamentais para manter o equilíbrio e harmonia ao longo desses anos.

A todas as pessoas que de uma forma ou outra acabaram influenciando para que eu chegasse até aqui.

Muito obrigado!!!

EPÍGRAFE

"Olhe para as estrelas e não para baixo, para os seus pés. Tente entender o que vê e questione-se sobre o que faz o universo existir. Seja curioso."

Stephen Hawking

SUMÁRIO

RESUMO 9
ABSTRACT 10
1. INTRODUÇÃO GERAL 11
REFERÊNCIAS 13
2. ARGININA REDUZ ESTRESSE OXIDATIVO EM BETERRABA MINIMAMENTE PROCESSADA 15
RESUMO 15
ABSTRACT 15
2.1. INTRODUÇÃO 16
2.2. MATERIAL E MÉTODOS 18
2.2.1. Material Vegetal 18
2.2.2. Preparo do produto minimamente processado 19
2.2.3. Tratamentos 20
2.2.4. Determinações 21
2.3. RESULTADOS 24
2.3.1. Análise visual 24
2.3.2. Luminosidade e cromaticidade 29
2.3.3. Índice de esbranquiçamento (IE) 30
2.3.4. Taxa respiratória 31
2.3.5. Teor de sólidos solúveis e de açúcares redutor e total 32
2.3.6. Teor de betalaínas (betacianinas e betaxantinas) 35
2.3.7. Teor de compostos fenólicos totais 38
2.3.8. Capacidade antioxidante (ABTS) 37
2.3.9. Teor de flavonóis totais 39
2.3.10. Atividade da polifenol oxidase (PPO) e da peroxidase (POD) 40
2.4. DISCUSSÃO 42
2.5. CONCLUSÃO 45
REFERÊNCIAS 46
3. ARGININA REDUZ OXIDAÇÃO ENZIMÁTICA E PRESERVA QUALIDADE VISUAL E COMPOSTOS BIOATIVOS DE BETERRABAS MINIMAMENTE PROCESSADAS 51

RESUMO 51
3.1. INTRODUÇÃO 52
3.2. MATERIAL E MÉTODOS 53
3.2.1. Material Vegetal 53
3.2.2. Preparo do produto minimamente processado 54
3.2.3. Tratamentos 55
3.2.4. Determinações 55
3.3. RESULTADOS 58
3.3.1. Análise visual 58
3.3.2. Luminosidade e cromaticidade 61
3.3.3. Índice de esbranquiçamento (IE) 63
3.3.4. Taxa respiratória 63
3.3.5. Teor de sólidos solúveis e de açúcares redutor e total 64
3.3.6. Teor de betalaínas (betacianina e betaxantina) 66
3.3.7. Capacidade antioxidante (ABTS) 68
3.3.8. Teor de compostos fenólicos totais 69
3.3.9. Teor de flavonois totais 70
3.3.10. Atividade da polifenol oxidase (PPO) e da peroxidase (POD) 70
3.4. DISCUSSÃO 72
3.5. CONCLUSÃO 77
REFERÊNCIAS 77
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS 81
APÊNDICE 82

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 flavonois) 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 reconized as safe) additives widely used in vegetables. This study aimed to evaluate the efficacy of arginine in controllig 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 processsed 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 reconized 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.; 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.

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 (betalaínas, compostos fenólicos, flavonois 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 na amino acid that plays a role in the metabolic pathways of polyamines (PAs), nitric oxide (NO) and proline, which are anti-stress and anti-senescent agents. Arginine was applied in minimally processed red beet in order to evaluate its efectiveness 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.

Keywords: *Beta vulgaris* L.; White blush; Amino acid; Minimally processed

2.1. INTRODUÇÃO

A beterraba (*Beta vulgaris* L.) é uma hortaliça de grande importância para a dieta de muitos brasileiros, por ser fonte de antioxidantes, como betalaínas e compostos fenólicos, além de apresentar vitaminas A e do complexo B, potássio, ferro, sódio, cobre e zinco (Tivelli *et al.*, 2011). Esta hortaliça pode ser consumida na forma de saladas cruas ou cozidas, conservas, sucos, tortas, além de ser utilizada como corante alimentício (Nottingham, 2004). O sabor adocicado e a coloração púrpura atraem também pesquisadores, que estudam seus compostos nutricionais no combate a doenças degenerativas (Gengatharan *et al.*, 2015).

O processamento mínimo de frutas e hortaliças consiste em alterações físicas desses produtos, preservando o metabolismo ativo e mantendo o frescor desses alimentos. Essa técnica associa praticidade e segurança a uma alimentação saudável, e também pode contribuir para o aumento do consumo de frutas e hortaliças (Lamikanra, 2002; Moretti, 2007). Entretanto, a redução da vida útil desses produtos é um aspecto desfavorável do processamento. Como desvantagem, o processamento mínimo acelera o metabolismo do produto, causando aumento da taxa respiratória, descoloração de superfície e escurecimento enzimático, o que acelera a perda do valor nutricional e da qualidade (Cenci, 2011).

Os produtos vegetais estão constantemente sendo submetidos a diversas formas de estresse, sejam elas de origem natural ou provocado pela ação humana. Ao longo dos processos evolutivos, as plantas desenvolveram estratégias para reconhecer e responder a esses estresses. Uma das formas desenvolvidas para o combate do estresse oxidativo é por

meio de moléculas sinalizadoras, como espécies reativas de oxigênio (EROs) (Hossain *et al.*, 2015).

O estresse oxidativo em frutas e hortaliças pode ser determinado de forma direta ou indireta. Na forma direta, pode-se identificar pelo acúmulo de EROs, produtos de peroxidação lipídica, formação de compostos escuros e aumento do extravasamento de membranas. Enquanto que indiretamente, pode ser avaliado pela atividade de algumas enzimas e pelo teor de compostos antioxidantes (Toivonen, 2004).

Em produtos minimamente processados, algumas etapas como o descascamento e o corte podem ser consideradas fonte de estresse abiótico, que desencadeiam sinais de resposta a fim de reparar os danos provocados (Toivonen, 2004). A formação de EROs, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido ($O_2^{\bullet -}$), radical hidroxila ($OH^{\bullet}$) e oxigênio singleto ($^1O_2^{\bullet}$) é uma resposta das células vegetais a algum estresse ambiental e seu acúmulo pode causar danos em biomoléculas, como lipídios, proteínas e o próprio DNA (Das e Roychoudhury, 2014). A peroxidação lipídica é uma reação em cadeia iniciada por EROs que atua sobre os fosfolipídios, comprometendo a integridade das membranas das células e, consequentemente sua função de barreira seletiva. Com isso, ocorre o extravasamento do conteúdo celular, desintegração de organelas, oxidação de proteínas e de moléculas de DNA e RNA (Demidchik, 2015).

Os efeitos do estresse oxidativo sobre os produtos causam alteração do aspecto visual e das propriedades nutricionais e funcionais, resultando em produtos impróprios para o consumo e comercialização. No caso da beterraba minimamente processada, o estresse oxidativo acarreta no esbranquiçamento, que é o principal problema observado durante o armazenamento. Trata-se de uma barreira física formada por células danificadas e desidratadas, material de parede celular e resíduos de protoplasma que impedem a visualização das células preservadas e hidratadas nas camadas inferiores (Kluge *et al.*, 2006; Simões *et al.*, 2010).

Com o objetivo de reduzir os danos provocados nos produtos minimamente processados pelo estresse oxidativo, muitos aditivos podem ser utilizados na linha de processamento. A eficácia dos aditivos pode variar de acordo com suas propriedades intrínsecas, funcionando como antioxidantes (ácido ascórbico e cisteína), agentes quelantes (ácido cítrico e EDTA), acidificantes (ácido ascórbico e ácido cítrico), ou agindo de outra forma, como os óleos essenciais (Rico *et al.*, 2007; Ioannou, 2013). Além dos aditivos amplamente conhecidos e utilizados nas indústrias de processamento mínimo, os aminoácidos surgiram como uma alternativa eficaz no combate ao estresse oxidativo.

Em ensaio com aminoácidos em batata minimamente processada, tanto a aplicação de dose baixa de valina (0,1 mM) quanto a dose alta de cisteína (1,0 M) mantiveram as batatas sem escurecimento por quatro dias (Ali *et al.*, 2016). A arginina é outro aminoácido que também foi considerado eficaz no controle de escurecimento enzimático em maçã (250 mM) e alface (100 mM) (Wills e Li, 2016).

O metabolismo da arginina está relacionado com diversos processos metabólicos. Além de sua função como aminoácido essencial na composição de proteínas e componentes estruturais, ela também é precursora na síntese de biomoléculas importantes para a sinalização e mecanismos de defesa das plantas, como o óxido nítrico (NO) e as poliaminas (PAs) (Winter *et al.*, 2015). Em pós-colheita, a aplicação de NO apresenta muitos benefícios, como retardo no amadurecimento e senescência, aumento da resistência a desordens fisiológicas e ao ataque de patógenos (Zhang *et al.*, 2013; Wills, 2015). No caso das poliaminas, o mecanismo de ação em produtos hortícolas pode-se dar de duas formas: proteção das membranas ao sequestrar radicais livres (Alcázar *et al.*, 2006) e também atuando como sinalizadoras em processos celulares importantes (Pál *et al.*, 2015). De ambas as formas as PAs contribuem no combate ao estresse oxidativo.

Trabalhos recentes mostram a busca por alternativas na conservação e prolongamento da vida pós-colheita de produtos minimamente processados. Os aminoácidos são aditivos GRAS (*Generally reconized as safe*), ou seja, considerados seguros para alimentos. 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. Para isso, este trabalho visou determinar a melhor dose e pH de aplicação de arginina para a redução de esbranquiçamento e manutenção da qualidade nutricional de beterraba minimamente processada.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Material Vegetal

Beterrabas Híbrido Boro F1 foram obtidas de unidade beneficiadora em Piedade, no Estado de São Paulo (23º 42’ 43” S, 47º 25’ 40” W). As hortaliças foram lavadas e selecionadas de acordo com parâmetros de tamanho e calibre estabelecidos pela unidade

beneficiadora, em seguida foram transportadas para Piracicaba/SP e rigorosamente selecionadas quanto a ausência de injúrias mecânicas e patológicas. Após, foram pré-resfriadas em câmara fria a 10°C para serem minimamente processadas no dia seguinte.

2.2.2. Preparo do produto minimamente processado

O processamento mínimo da hortaliça foi realizado em ambiente higienizado e refrigerado (15°C), sendo utilizado o fluxograma adaptado de Vitti (2003), seguindo o detalhamento das operações:

a. **Sanitização do produto inteiro com casca**: o material foi submerso em solução sanitizante (dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa a 8% na concentração de 1,5 mL L^{-1}) por 15 minutos e drenado em seguida.
b. **Descascamento**: as beterrabas foram descascadas mecanicamente utilizando-se uma descascadora industrial (marca Skymsen, modelo DP-06, Brusque, Santa Catarina, Brasil) com disco abrasivo.
c. **Sanitização 1**: para reduzir a microbiota após o descascamento, o material foi tratado por 10 minutos em solução sanitizante (dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa a 8% na concentração de 1,5 mL L^{-1}) e drenado em seguida.
d. **Corte**: as beterrabas foram submetidas ao corte em forma de retalhos (espessura 4 mm) utilizando-se uma processadora (Robot Coupe® CL 50 ultra, Vincennes, França).
e. **Sanitização 2**: o material foi tratado por 5 minutos em solução sanitizante (dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa a 8% na concentração de 1,5 mL L^{-1}), sendo drenado em seguida.
f. **Centrifugação 1**: foi realizada centrifugação de 30 segundos com velocidade constante equivalente a 800 x *g* para retirada do excesso de umidade e para evitar a diluição dos tratamentos.
g. **Enxague/Aplicação de Tratamento**: foi realizado durante 5 minutos em água destilada ou solução com aditivo.
h. **Centrifugação 2**: foi realizada nova centrifugação de 30 segundos com velocidade constante equivalente a 800 x *g* para retirada do excesso de umidade.
i. **Porcionamento e embalagem:** amostras de 200 g foram acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido e embaladas com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 14 µm.

2.2.3. Tratamentos

Foram testadas combinações de quatro diferentes doses de arginina (0, 10, 25 e 50 mM) com três diferentes faixas de pH (inalterado, pH 6,0 e pH 7,0) com o objetivo de estabelecer a dose e faixa de pH com maior eficácia na conservação da qualidade do produto. As beterrabas foram minimamente processadas seguindo as etapas do item 2.2. Os tratamentos foram divididos da seguinte maneira:

Tratamento 1: 0,0 mM de arginina e pH inalterado

Tratamento 2: 0,0 mM de arginina e pH 6,0

Tratamento 3: 0,0 mM de arginina e pH 7,0

Tratamento 4: 10,0 mM de arginina e pH inalterado

Tratamento 5: 10,0 mM de arginina e pH 6,0

Tratamento 6: 10,0 mM de arginina e pH 7,0

Tratamento 7: 25,0 mM de arginina e pH inalterado

Tratamento 8: 25,0 mM de arginina e pH 6,0

Tratamento 9: 25,0 mM de arginina e pH 7,0

Tratamento 10: 50,0 mM de arginina e pH inalterado

Tratamento 11: 50,0 mM de arginina e pH 6,0

Tratamento 12: 50,0 mM de arginina e pH 7,0

Os tratamentos com arginina e sem alteração de pH apresentaram pH maior que 10. O tratamento sem arginina e sem alteração do pH apresentou pH próximo de 6,5. Para alteração do pH nos tratamentos com arginina e faixas de pH alteradas (pH 6,0 e pH 7,0), utilizou-se uma solução de 1,0 N de ácido clorídrico. A aplicação do tratamento foi realizada por imersão nas soluções correspondentes por 5 minutos, após a primeira centrifugação do fluxograma (etapa f). Em seguida, foi realizada nova centrifugação (etapa h) para remoção do excesso de umidade e melhor apresentação do produto. As análises foram realizadas logo após o processamento (dia 0) e posteriormente a cada três dias até 12 dias, totalizando cinco períodos de análises (dias: 0, 3, 6, 9 e 12). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em parcelas subdivididas no tempo em esquema fatorial 4 x 3 x 5 (doses de arginina x faixas de pH x dias de análise), com três repetições de 200 g.

2.2.4. Determinações

Análise visual: a análise visual foi realizada por atribuição de notas para os parâmetros esbranquiçamento, opacidade e brilho, realizadas sempre pelo mesmo analista. A escala de notas para esbranquiçamento e opacidade variaram de 1 a 5, sendo 1 = nenhum; 2 = pouco; 3 = médio; 4 = alto; 5 = muito alto. Para brilho as notas variaram de 1 a 5, sendo que 1 = muito baixo; 2 = baixo; 3 = médio; 4 = alto; e 5 = muito alto (Figura 1).

Figura 1. Escala de notas para avaliação visual de beterraba minimamente processada quanto ao esbranquiçamento, brilho e opacidade. Esbranquiçamento e opacidade variaram de 1 a 5, sendo 1 = nenhum; 2 = pouco; 3 = médio; 4 = alto; 5 = muito alto. Para brilho as notas variaram de 1 a 5, sendo que 1 = muito alto; 2 = alto; 3 = médio; 4 = baixo; e 5 = muito baixo

Cor: a cor instrumental foi determinada por meio de leitura direta sobre o produto utilizando colorímetro digital (Minolta Chroma Meter CR-400), em oito pontos de cada repetição (bandeja de 200 g). Foram determinados os valores do modo CIE L* a* b*, utilizados para o cálculo da cromaticidade (C), segundo McGuire (1992) e o índice de esbranquiçamento.

Índice de esbranquiçamento: o índice de esbranquiçamento (IE) foi calculado de acordo com a metodologia de Boun e Huxsoll (1991), utilizando a seguinte equação:

$$IE = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

Quanto maior o IE, maior é a intensidade de esbranquiçamento do produto.

Taxa respiratória: para a determinação da taxa respiratória, o produto foi acondicionado em frascos de vidro com capacidade de 600 mL e tampa de metal com septo de silicone. Os frascos com aproximadamente 80 g de produto ficaram herméticos por 1 hora a 5°C. Amostras de 0,5 mL do gás interno foram coletadas e injetadas em cromatógrafo a gás (Thermo Electron Corporation, modelo Trace GC Ultra) com detector de ionização de chama (FID), tendo hidrogênio como gás de arraste a um fluxo de 30 mL min^{-1}. As temperaturas utilizadas foram de 110ºC na coluna, 140ºC no injetor, 250ºC no detector e 350ºC no metanador. A atividade respiratória foi calculada com base nos resultados obtidos das determinações cromatográficas, na massa do produto contida no interior do frasco, no volume do frasco e no tempo em que os frascos permaneceram fechados. Os resultados foram expressos em mL CO_2 kg^{-1} h^{-1}.

Teor de sólidos solúveis: as amostras foram trituradas em multiprocessador e o suco extraído foi utilizado para a leitura em refratômetro digital (Modelo ATAGO, PR 100, Japão). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Teor de açúcares (redutores e totais): O extrato de açúcares foi realizado com adição de 10 mL de etanol 80% em 0,01 g de amostra liofilizada. Após agitação e centrifugação, o sobrenadante foi coletado para realização das análises de açúcares redutores, pelo método de Somogyi-Nelson (Nelson, 1944; Somogyi, 1952) e de açúcares totais, de acordo com a metodologia de Dubois *et al.* (1956). Os resultados foram calculados por meio de curva padrão com glicose e expressos em porcentagem de açúcares redutores ou totais em relação à amostra liofilizada.

Teor de Betalaínas (betacianina e betaxantina): a extração das betalaínas foi realizada com adição de 10 mL do tampão Britton-Robinson 40 mmol L^{-1} e pH 6,0 em 0,1 g de amostra liofilizada e o teor de betalaínas foi determinado seguindo a metodologia proposta por Stintzing *et al.* (2005), utilizando leitura em espectrofotômetro em comprimento de ondas específicas para betacianinas e betaxantinas (538 nm e 480 nm, respectivamente). A quantificação foi realizada pela fórmula:

$$Betalaína\ (mg\ g^{-1}) = A \times DF \times MW \times 1000 \times \varepsilon \times l$$

Onde: A = valor de absorção correspondente ao máximo de absorção corrigida em leitura espectrofotométrica a 600 nm; DF = fator de diluição; MW = peso molecular específico para betacianina e betaxantina; ε = coeficiente de extinção molar; l = espessura da cubeta.

Capacidade antioxidante (ABTS): a metodologia utilizada foi uma adaptação dos trabalhos de (Berg *et al.*, 1999; Re *et al.*, 1999; Arts *et al.*, 2004). A leitura espectrofotométrica foi realizada em 734 nm, utilizando o Trolox como referência para a curva padrão. Os resultados foram expressos em TEAC, atividade antioxidante equivalente ao Trolox na base seca (µmol TEAC g^{-1} de amostra liofilizada).

Teor de compostos fenólicos totais: os compostos fenólicos foram mensurados pelo reativo Folin-Ciocauteau, conforme Singleton e Rossi (1965). O extrato fenólico foi realizado com a adição de 10 mL de metanol 80% em 0,1 g de amostra liofilizada. Após agitação, o extrato ficou em repouso no escuro por 2 horas em temperatura ambiente. Em seguida, o extrtato foi centrifugado e o sobrenadante coletado para análise. Em 0,2 mL do extrato fenólico foram adicionados 1,5 mL de água destilada e 0,1 mL de reagente Folin-Ciocauteau P.A., após agitação e repouso adicionou-se 0,2 mL de carbonato de sódio 20%. A reação foi encubada durante duas horas no escuro e as leituras espectrofotométricas foram realizadas a 765 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (padrão) por g de massa seca de beterraba (mg EAG g^{-1}).

Teor de flavonois totais: a determinação de flavonois totais foi realizada conforme descrito por Lees e Francis (1972), com modificações na quantidade de amostra utilizada de 100 g para 0,2 g de beterraba liofilizada e 10 mL de solução extratora de etanol a 95% e HCl a 1,5 N (85:15 v/v). A extração ocorreu por 24 h em ambiente refrigerado e protegido de luz. Em seguida, o extrato foi filtrado em papel de filtro e o volume completado para 50 mL. Após 2 horas de repouso no escuro, as leituras espectrofotométricas foram realizadas em comprimento de onda de 374 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente em quercetina (EQ) por g de amostra liofilizada (mg EQ g^{-1} MS).

Atividade da Polifenol oxidase (EC 1.10.3.1): a atividade da PPO foi determinada conforme metodologia adaptada de Giner *et al.* (2001). Para o extrato enzimático, foram adicionados 5 mL de tampão fosfato-citrato 0,1 M pH 6,5 contendo 1 M de NaCl e 10 g L^{-1} de polivinilpirrolidona 10 em 0,01 g de amostra liofilizada. Após agitação e centrifugação, o sobrenadante foi coletado (extrato enzimático). Todo o processo de extração ocorreu sob baixa temperatura. As leituras de absorbância foram realizadas em comprimento de onda de

420 nm imediatamente após a adição de 2 mL de pirocatecol 0,05 M em 0,03 mL de extrato enzimático e depois de três minutos, com a estabilização da reação. Os resultados foram expressos em unidade enzimática por grama de amostra liofilizada (U_{PPO} g^{-1} MS). Uma unidade enzimática foi considerada arbitrariamente como sendo o aumento na leitura espectrofotométrica de 0,001 por minuto.

Atividade da Peroxidase (EC 1.11.11.7): a atividade da POD foi realizada de acordo com o método proposto por Hemeda e Klein (1990). O extrato enzimático foi realizado com a adição de 5 mL de acetato de sódio 100 mM pH 5,0 contendo 10 g L^{-1} de polivinilpirrolidona 10 em 0,02 g de amostra liofilizada. O extrato enzimático foi obtido pela coleta do sobrenadante após agitação e centrifugação. Todo o processo foi realizado em ambiente refrigerado. As leituras espectrofotométricas foram realizadas em comprimento de onda de 470 nm e a reação com guaiacol foi acompanhada até estabilização (cinco minutos). Os resultados foram expressos da mesma forma que a atividade da PPO, em unidade enzimática por grama de amostra liofilizada (U_{POD} g^{-1} MS).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Análise visual

A análise visual, apesar de ser subjetiva, representa a aceitação do produto pelo consumidor. Análises objetivas, como cor e IE, contribuem com a imparcialidade dos resultados. Desse modo, as análises subjetivas e objetivas são complementares e representam de forma fidedigna o comportamento e a aceitabilidade dos produtos. Por se um atributo de qualidade relacionado com a decisão de compra do produto (Toivonen e Brummell, 2008), manter a aparência implica em reduzir perdas econômicas e também perda de qualidade.

A análise visual por atribuição de notas representa a percepção do consumidor em relação às beterrabas minimamente processadas quanto ao esbranquiçamento, brilho e opacidade. Do ponto de vista comercial, o esbranquiçamento alto (nota $\geq$ 4), brilho baixo (nota $\leq$ 2) e opacidade alta (nota $\geq$ 4) representam produtos inaptos à comercialização.

Beterrabas sem aplicação de arginina atingiram o limite comercial antes das tratadas com arginina, sendo adequados à comercialização até o terceiro dia de armazenamento (Figura 2). A dose de 10 mM de arginina apresentou diferenças no aspecto visual dos produtos em função do pH. Nesta dose, o pH 7,0 provocou alteração visual mais acelerada,

seguido do pH inalterado e pH 6,0, mantendo aspecto visual adequado por 3, 6 e 9 dias, respectivamente.

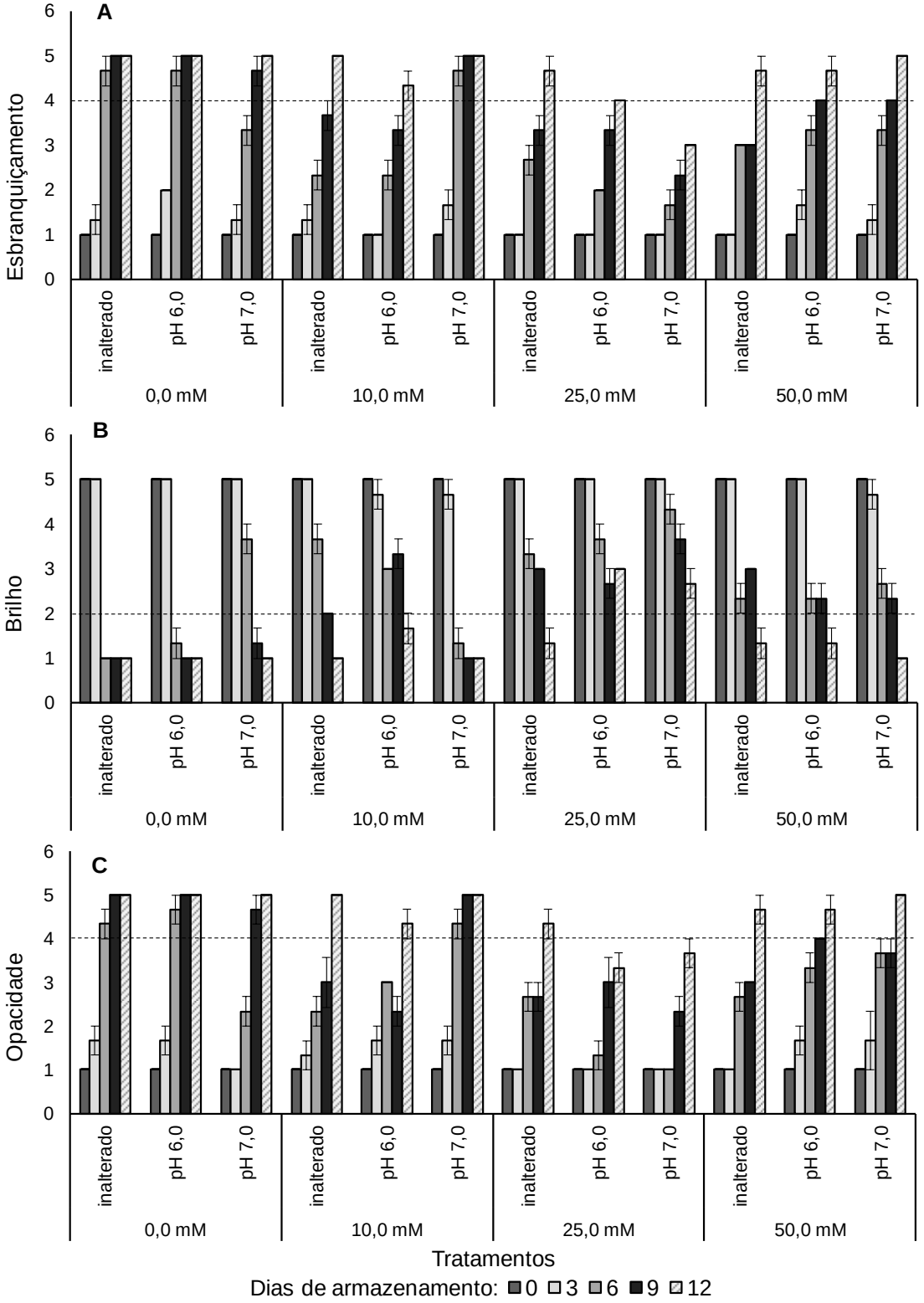

Figura 2. Análise visual por atribuição de notas quanto ao esbranquiçamento (A), brilho (B) e opacidade (C) em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Notas para esbranquiçamento e brilho: 1 – nenhum e 5 – muito alto; e para opacidade: 1 – muito alto e 5 – muito baixo. As linhas segmentadas indicam os valores limitantes. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

A dose que promoveu maior conservação dos aspectos visuais das beterrabas minimamente processadas foi de 25 mM de arginina (Figura 3). Para o tratamento com esta dose sem alteração do pH houve atraso no avanço dos pontos críticos para a comercialização. Enquanto que para as beterrabas tratadas com mesma dose e pH 6,0 e pH 7,0, o brilho e opacidade não atingiram o limite comercial. Em relação ao esbranquiçamento, apenas as beterrabas tratadas com 25 mM e pH 7,0 não atingiram nota 4 (Figura 2A).

Na maior dose de arginina testada (50 mM) também se observou atraso para atingir o limite quanto aos aspectos visuais. No tratamento com 50 mM e pH inalterado, o produto ficou adequado até o 9º dia, enquanto que o tratamento com mesma dose e pH 6,0 e pH 7,0 as beterrabas ficaram aptas para comercialização até o 6º dia. Esses resultados apontam a arginina como potencial aditivo utilizado para controle do esbranquiçamento em beterraba minimamente processada.

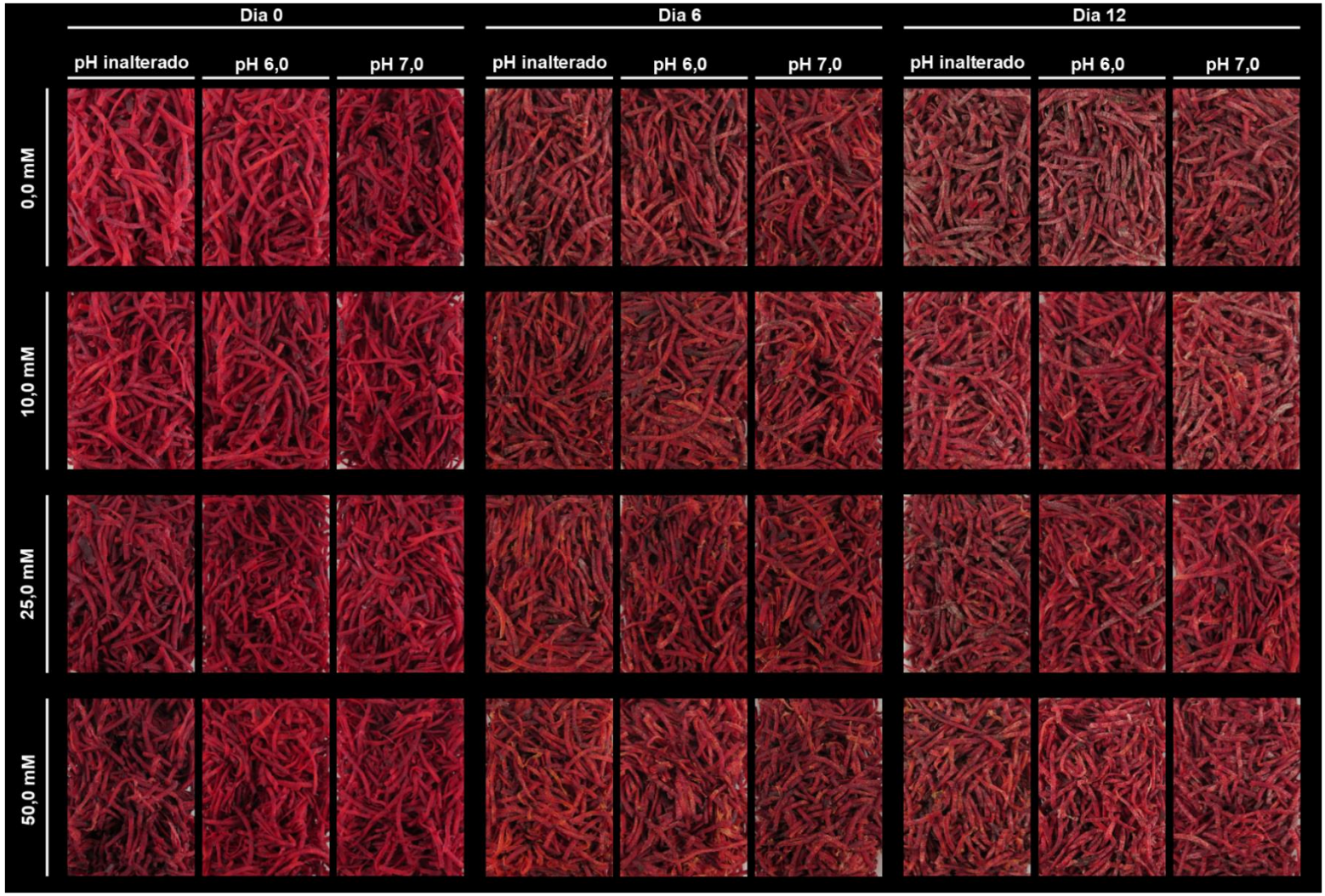

Figura 3. Beterrabas do Híbrido Boro F1 minimamente processadas tratadas com diferentes doses de arginina (0, 10, 25 e 50 mM) aplicadas em diferentes faixas de pH (inalterado, pH 6,0 e pH 7,0) e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

2.3.2. Luminosidade e cromaticidade

Os parâmetros de cor que são mais perceptíveis e estão mais associados ao esbranquiçamento são a luminosidade (L*) e a cromaticidade (C). A luminosidade representa a percepção de claro ou escuro de uma cor, sendo os valores mais positivos os mais claros. Já a cromaticidade, representa a intensidade de uma cor, em que valores maiores indicam cores mais puras. No caso da beterraba minimamente processada, os valores médios aproximados de luminosidade e cromaticidade imediatamente após o processamento foram de 16 e 30, respectivamente (Figura 4). Com o avanço dos dias, observou-se tendência de aumento da luminosidade e redução da cromaticidade, resultando em um produto com aspecto desidratado e esbranquiçado.

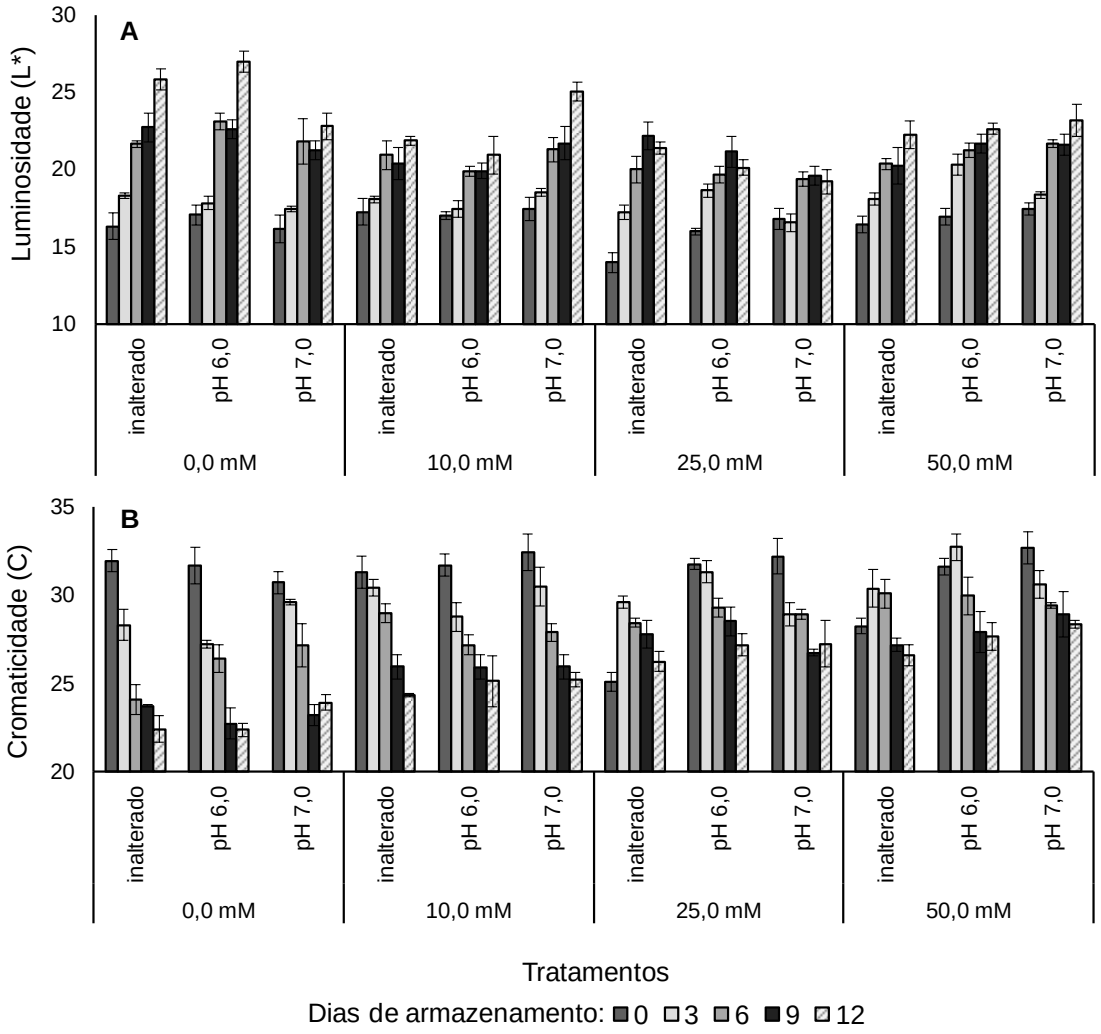

Figura 4. Luminosidade (A) e cromaticidade (B) em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Para os tratamentos sem a aplicação de arginina e independente da faixa de pH, o aumento da luminosidade e diminuição da cromaticidade foram mais acentuados em comparação com os demais tratamentos. A maioria das beterrabas apresentou aumento significativo da luminosidade do terceiro para o sexto dia e, para os tratamentos sem arginina sem alteração do pH e com pH 6,0 e com 10 mM de arginina e pH 7,0 houve um novo aumento do nono para o último dia de armazenamento. As beterrabas dos demais tratamentos ficaram estáveis até o fim do período, com destaque para os produtos tratados com 25 mM de arginina, que mostraram menor luminosidade (Figura 4A).

A aplicação de 25 mM de arginina sem alteração do pH provocou escurecimento inicial no produto, resultando em luminosidade e cromaticidade mais baixos que nos demais tratamentos. Já o produto tratado com mesma dose e pH 7,0 apresentou pouca variação na cromaticidade a partir do 3º dia, permanecendo estável a partir do 6º dia. A cromaticidade das beterrabas tratadas com as maiores doses de arginina (25 e 50 mM) ficou semelhante no final do armazenamento, com valores maiores em comparação com as beterrabas sem arginina. A queda nos valores de cromaticidade foi mais acentuada para os produtos tratados com as menores doses de arginina (0 e 10 mM).

Esses resultados complementam o observado nas outras variáveis analisadas, reforçando a possível eficácia da arginina no controle do esbranquiçamento em beterraba minimamente processada.

2.3.3. Índice de esbranquiçamento (IE)

O índice de esbranquiçamento é uma medida que determina o quanto a superfície do produto está com aspecto esbranquiçado e desidratado. No caso da beterraba minimamente processada, o produto recém-processado apresenta IE próximo a 10. Quando o produto apresenta aspecto esbranquiçado, este valor aumenta. O IE limitante para a beterraba minimamente processada está na faixa de 16 a 18, o que indica que o produto já está com a aparência afetada e não é considerado mais comercializável.

Observou-se que o aumento mais expressivo do IE ocorreu do terceiro para o sexto dia. Para as beterrabas não tratadas com arginina, o esbranquiçamento evoluiu de forma mais acentuada, sendo que no 6º dia todas as beterrabas sem o aminoácido apresentaram a aparência comercialmente afetada (Figura 5). Nesse mesmo dia, as beterrabas tratadas com 25 mM de arginina se destacaram pelo menor IE em relação aos demais tratamentos. No fim do

armazenamento, os maiores IE foram registrados para as beterrabas sem arginina, seguidos das tratadas com 10 e 50 mM de arginina.

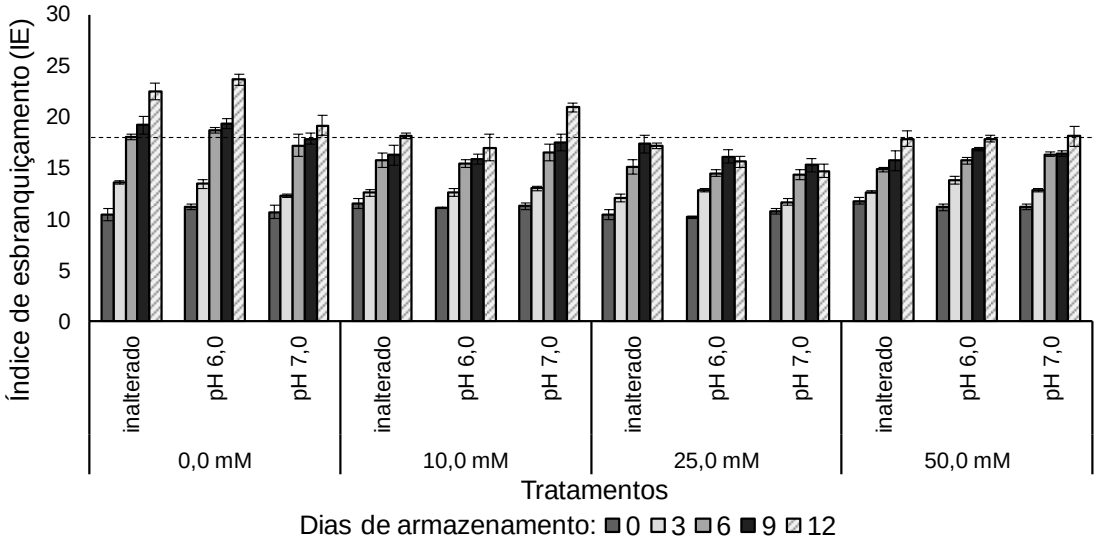

Figura 5. Índice de esbranquiçamento em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

A dose de 25 mM de arginina foi a mais eficaz no controle do avanço do IE. Nesta dose, o pH inalterado e pH 6,0 também mantiveram os produtos aptos para a comercialização até o 9º dia. Já os produtos tratados com mesma dose e pH 7,0 mantiveram o IE menor em relação a todos os demais tratamentos, mantendo a aparência do produto adequada para a comercialização durante todo o período avaliado.

Para a maior dose de arginina (50 mM), o tratamento com pH inalterado retardou o desenvolvimento do esbranquiçamento até o 9º dia, enquanto que os tratamentos com pH alterado mantiveram o IE dentro dos valores aceitáveis até o 3º dia.

2.3.4. Taxa respiratória

Em relação a taxa respiratória, as beterrabas sem aplicação de arginina apresentaram dois picos respiratórios, sendo um no 3º dia e o outro no 9º dia (Figura 6). A taxa respiratória para tratamentos logo após o processamento foi maior quando comparada com os tratamentos que receberam arginina. Além disso, observou-se que o aumento da taxa respiratória no 3º dia não foi tão expressivo em relação aos tratamentos sem arginina, ou seja, este aminoácido contribuiu com a redução de mais da metade da taxa respiratória nos primeiros dias de

armazenamento para a maioria dos produtos tratados com arginina. Por outro lado, as beterrabas sem arginina mais do que dobraram a taxa respiratória do dia do processamento para o terceiro dia.

Entretanto, pode-se observar uma tendência no aumento da taxa respiratória ao longo do tempo de armazenamento, sendo que esse aumento é mais expressivo quanto maior é a dose de arginina, independente da faixa de pH.

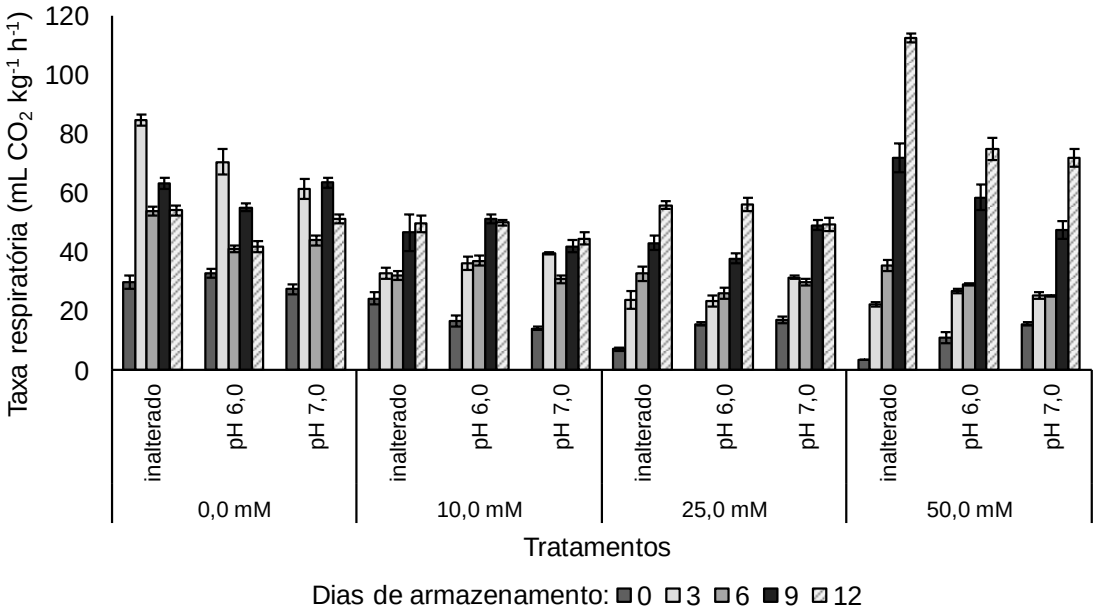

Figura 6. Taxa respiratória em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4).

Os produtos tratados com 10 mM de arginina e pH inalterado e com pH 6,0 e 25 mM e pH 7,0 apresentaram o mesmo padrão respiratório, com aumento gradual ao longo do tempo. Beterrabas tratadas com 25 e 50 mM de arginina e sem alteração dos pHs apresentaram aumento contínuo da taxa respiratória até o final do armazenamento. As beterrabas tratadas com 50 mM de arginina independente do pH tiveram as maiores taxas respiratórias no final do armazenamento, apesar de apresentarem menores taxas iniciais.

2.3.5. Teor de sólidos solúveis e de açúcares redutor e total

O teor de sólidos solúveis apresentou pouca variação entre os tratamentos durante o armazenamento, ficando entre 8 e 9% (Figura 7A). Beterrabas tratadas com 50 mM de arginina e pH 7,0 caracterizam-se pelo maior teor de sólidos solúveis durante todo o período.

O menor valor de sólidos solúveis no dia do processamento foi para o produto com 25 mM de arginina e pH 7,0 com 8,13%. A maioria das beterrabas tratadas apresentou estabilidade no teor de sólidos solúveis durante todo o período avaliado. As beterrabas com tratamento de 50 mM de arginina sem alteração do pH apresentaram redução gradual dos sólidos solúveis, o que pode estar relacionado com a taxa respiratória, que foi mais elevada para esse tratamento em relação aos demais com a mesma dose do aminoácido. Apesar da pequena variação nos teores de sólidos solúveis, acredita-se que não seja perceptível aos consumidores, visto que a diferença entre o maior e menor valor não ultrapassou 1%.

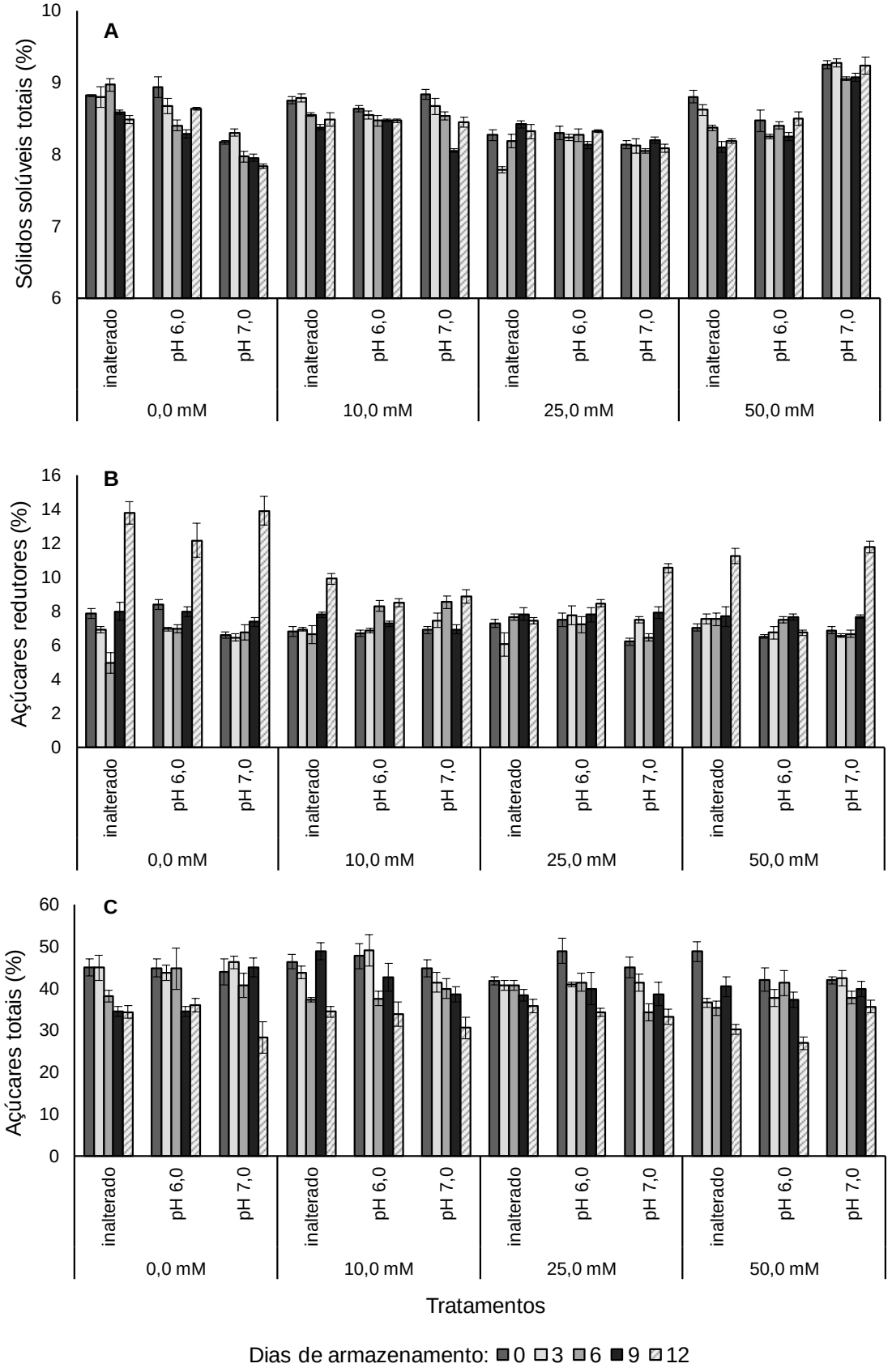

Figura 7. Teor de sólidos solúveis (A), açúcares redutores (B) e açúcares totais (C) em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Os açúcares, além de estarem diretamente relacionados com aspecto sensorial dos produtos hortícolas, também são substratos importantes para o metabolismo, participando de geração de energia pela respiração e por formar outros compostos derivados das vias metabólicas. Os açúcares redutores (AR), principalmente glicose e frutose, estão mais diretamente relacionados com as vias metabólicas, uma vez que são compostos menores e prontamente consumidos nesses processos. Apesar de algumas oscilações, pode-se dizer que até o 9º dia de armazenamento não se observou diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 7B). Apenas no último dia avaliado (12º dia) houve diferenças significativas entre os tratamentos. As beterrabas sem aplicação de arginina apresentaram maiores teores de AR, enquanto que a maioria das beterrabas tratadas com arginina teve as menores porcentagens. A maior parte dos tratamentos mostrou estabilidade nos teores de AR, com aumento no último dia. Para alguns tratamentos não houve variação de AR durante o armazenamento, principalmente para as concentrações de 10, 25 e 50 mM e pH 6,0 e de 25 mM sem alteração de pH.

O teor de açúcar total (AT) está mais relacionado com o aspecto sensorial do produto que, no caso da beterraba, é característico pelo sabor adocicado. Não foram observadas variações expressivas nos teores de AT durante todo o armazenamento para todos os tratamentos. Todas as beterrabas minimamente processadas apresentaram tendência de redução no teor de AT, provavelmente porque esses compostos de reserva foram consumidos pelo metabolismo do produto (Figura 7C). As diferenças são mais evidentes no final do período de armazenamento. Apesar da tendência de redução, as beterrabas tratadas com concentração 25 mM de arginina sem alteração de pH e com 50 mM e pH 7,0 mostraram estabilidade na porcentagem de AT desde o dia do processamento até o final do armazenamento.

2.3.6. Teor de betalaínas (betacianinas e betaxantinas)

A determinação do estresse oxidativo de maneira indireta pode ser realizada por meio de avaliação dos compostos secundários característicos dos produtos em questão. No caso da beterraba, os principais compostos presentes são as betalaínas (betacianinas e betaxantinas) e os compostos fenólicos. Estes compostos apresentam propriedades antioxidantes, que tornam a beterraba uma hortaliça de destaque quando se busca um produto funcional.

Os teores de betalaínas (betacianina e betaxantina) apresentaram comportamentos semelhantes para as beterrabas sem arginina e com 10 mM de arginina, independente da alteração do pH (Figura 8). Beterrabas tratadas com 25 mM e 50 mM de arginina apresentaram maior estabilidade nos teores de betacianinas e betaxantinas durante o armazenamento, apesar da maior variação ter sido observada para as beterrabas tratadas com 25 mM e pH 7,0. Para a maior parte dos tratamentos observou-se redução significativa no último dia analisado (dia 12).

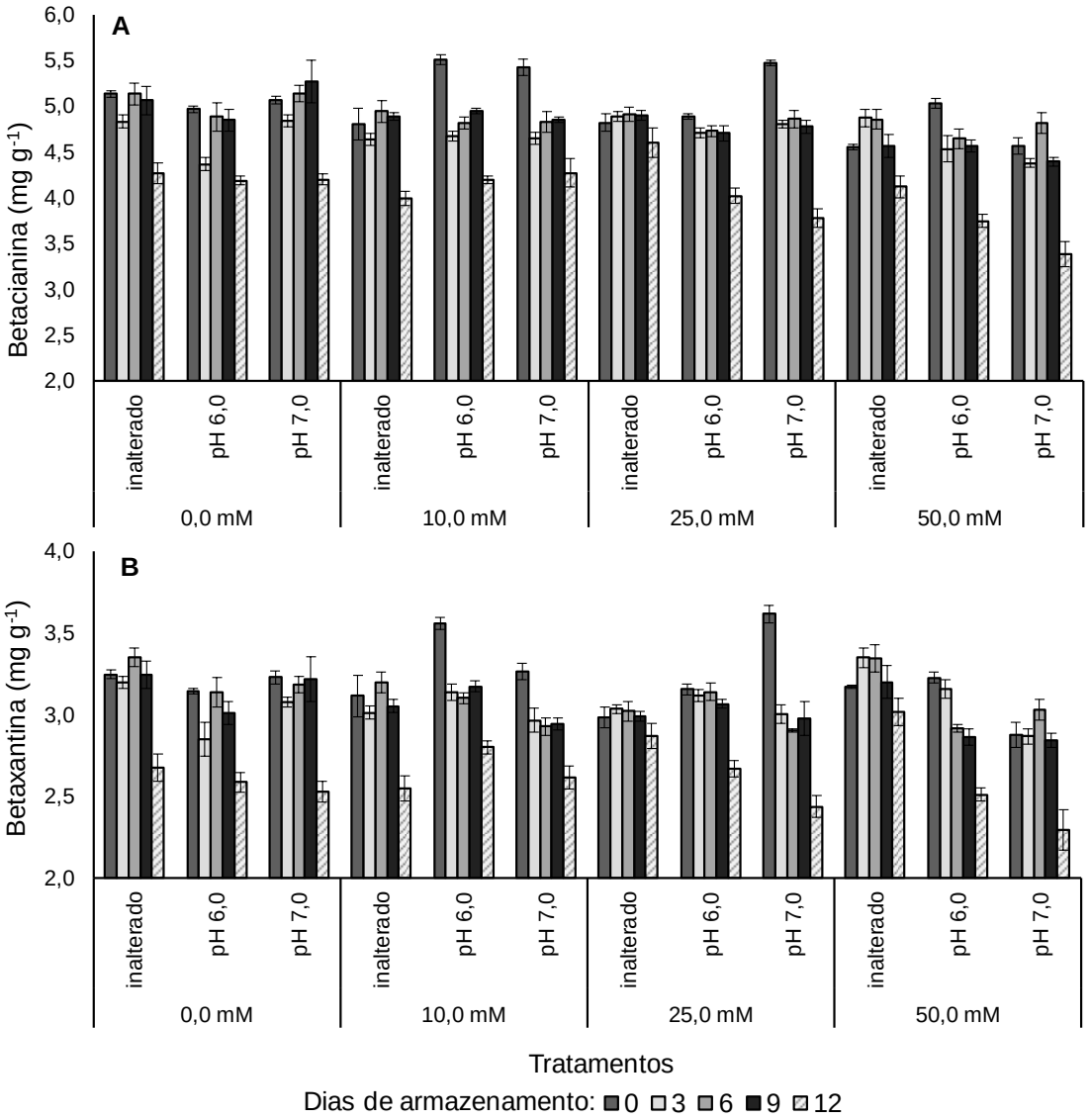

Figura 8. Conteúdo de betacianina (A) e betaxantina (B) em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Para betacianinas, não houve influência das faixas de pH combinadas com as doses durante o armazenamento. Porém, pode-se perceber que a variação no teor de betacianinas ao

longo dos dias foi mais evidente para as menores doses de arginina, apesar de não ter diferença estatística em relação à dose de 25 mM. Para a dose de 50 mM, ainda que apresente estabilidade durante o armazenamento, os teores de betacianinas foram menores em relação às demais doses. Esses resultados indicam que a arginina pode auxiliar na preservação dos teores de betalaínas durante o armazenamento.

2.3.7. Capacidade antioxidante (ABTS)

A capacidade antioxidante acompanhou o comportamento do teor de betalaínas para a maioria dos tratamentos. No caso das beterrabas sem aplicação de arginina e com 10 mM, a capacidade antioxidante apresentou oscilação no início do armazenamento com aumento gradual até o 9º dia, seguido de queda significativa no último dia (Figura 9). Essas doses promoveram maior variação na capacidade antioxidante, independente da alteração do pH.

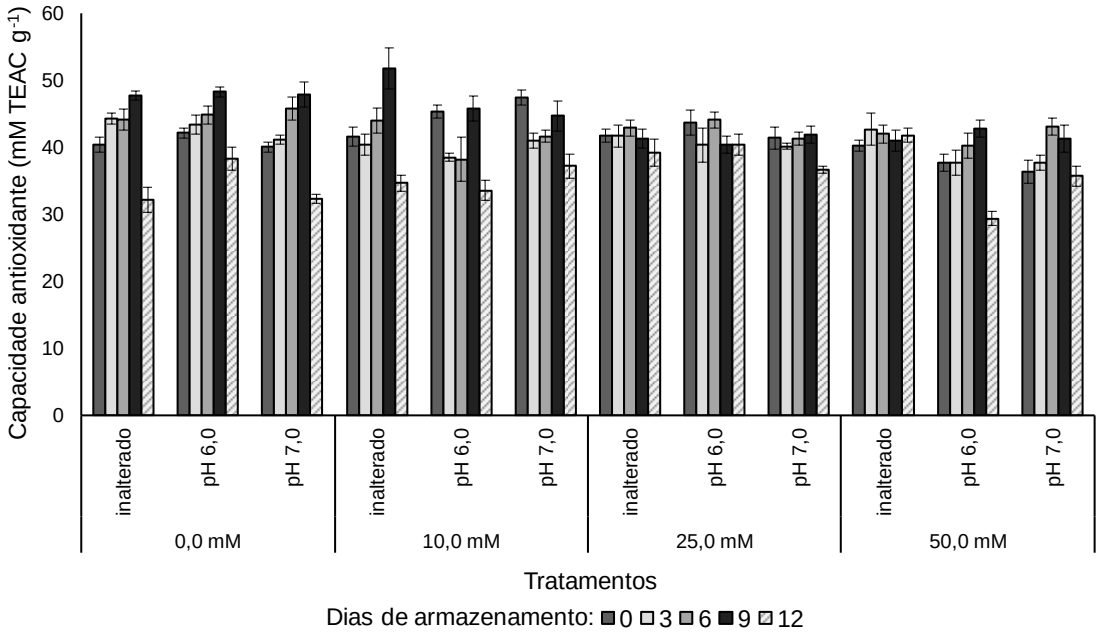

Figura 9. Capacidade antioxidante (ABTS) das betalaínas em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Doses mais elevadas promoveram maior estabilidade da capacidade antioxidante durante o armazenamento, principalmente para a dose de 25 mM. Nessa dosagem, a capacidade antioxidante foi menor em relação às menores doses apenas no 9º dia. Beterrabas tratadas com 50 mM de arginina apresentaram as menores capacidades antioxidantes em

relação aos demais tratamentos, com destaque para o dia do processamento (dia 0) e os dois últimos dias de análise (dias 9 e 12).

2.3.8. Teor de compostos fenólicos totais

Em relação ao teor de compostos fenólicos totais, as beterrabas sem aplicação de arginina (pH inalterado e pH 6,0) apresentaram teores iniciais mais elevados de compostos fenólicos, mas com redução significativa no 3º e 6º dias avaliados (Figura 10). A beterraba sem aplicação de arginina e pH 6,0 apresentou maior variação no teor de compostos fenólicos totais, com redução de 30% no sexto dia em relação ao dia do processamento. Beterrabas tratadas com a menor dose de arginina (10 mM) apresentaram variações semelhantes às beterrabas sem o aminoácido, com redução no teor de compostos fenólicos no último dia.

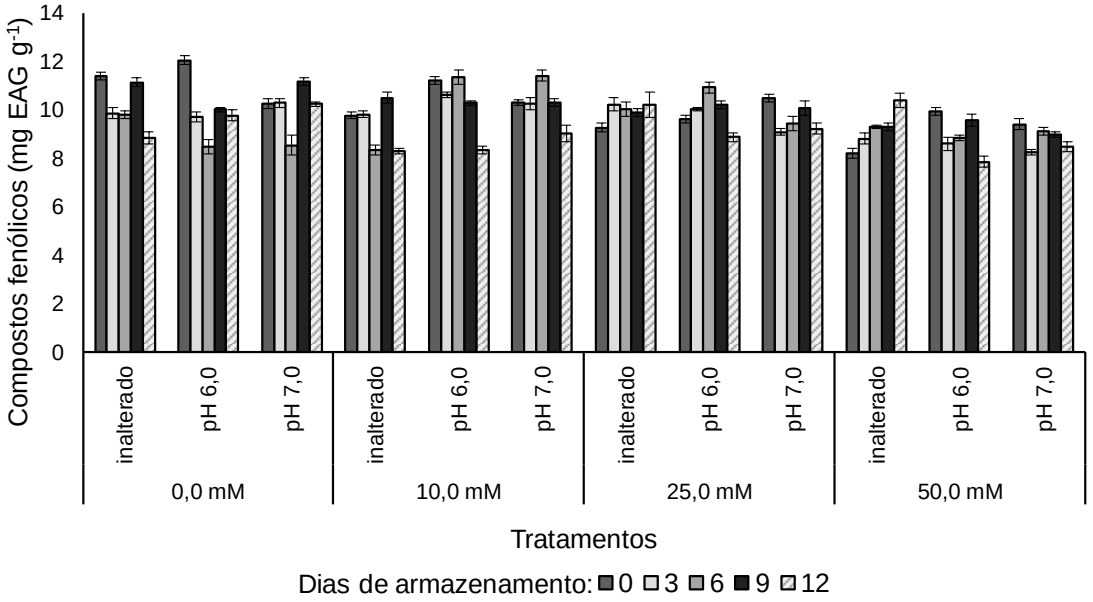

Figura 10. Teor de compostos fenólicos totais em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Em contrapartida, as doses mais elevadas (25 mM e 50 mM), promoveram variação dos teores de compostos fenólicos menos pronunciados, isto é, favoreceram a manutenção dos compostos fenólicos ao longo do armazenamento. O único tratamento que demonstrou comportamento diferente foi o de dose de 50 mM de arginina com pH inalterado que promoveu aumento gradual no teor de compostos fenólicos durante todo o período. Esses

resultados também mostram o potencial efeito da arginina na manutenção dos compostos fenólicos em beterraba minimamente processada.

2.3.9. Teor de flavonois totais

Os flavonois são compostos do metabolismo secundário que também possuem capacidade de sequestrar radicais livres, atuando como protetor da oxidação celular. Em relação ao teor de flavonois totais em beterrabas minimamente processadas e tratadas com arginina, foram observadas poucas alterações durante o armazenamento. Para a maioria dos tratamentos observou-se estabilidade nos teores totais de flavonois desde o processamento até o último dia de armazenamento. Apenas as beterrabas com arginina nas concentrações de 10 mM e pH 7,0; 25 mM e pH 6,0; e 50 mM sem alteração do pH e com pH 7,0 que apresentaram aumento no teor de flavonois totais no 12º dia de armazenamento (Figura 11).

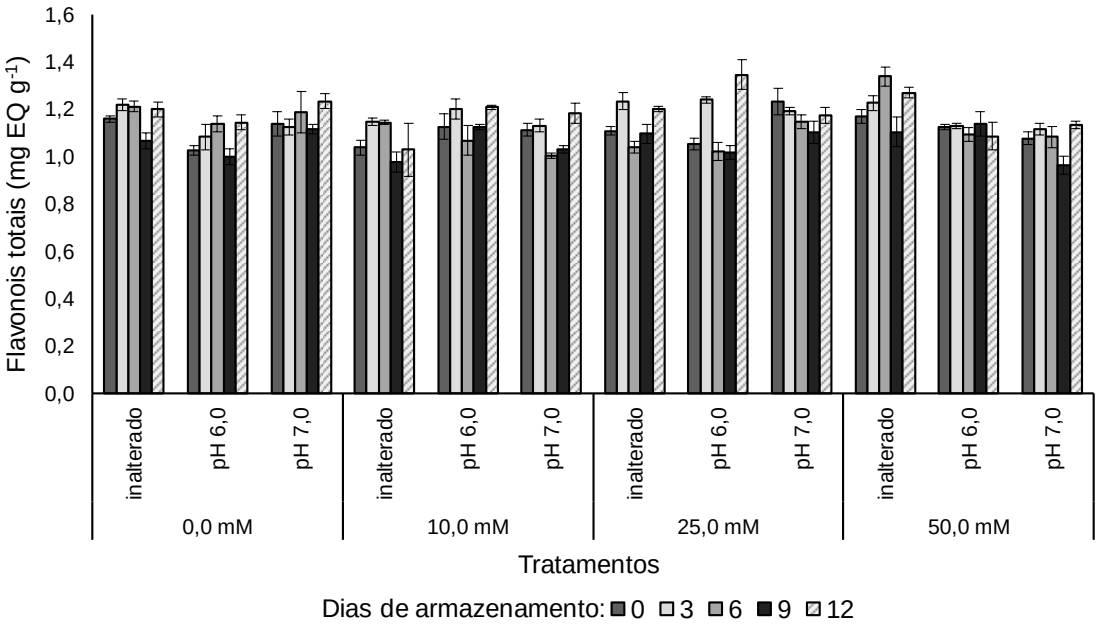

Figura 11. Teor de flavonois totais em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Durante o armazenamento, não houve diferença significativa entre os tratamentos na maioria dos dias avaliados. Os maiores teores de flavonois totais foram observados no 6º dia de armazenamento para as beterrabas tratadas com a maior dose (50 mM) sem alteração do pH e no 12º dia para beterrabas tratadas com 25 mM e pH 6,0.

2.3.10. Atividade da polifenol oxidase (PPO) e da peroxidase (POD)

Outra maneira de avaliar o estresse oxidativo em produtos minimamente processados, é por meio de análise da atividade enzimática de enzimas responsáveis pela desintoxicação de EROs nas células. Existem várias enzimas antioxidantes que contribuem para a inativação desses produtos gerados pelo estresse, como por exemplo, a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e a peroxidase (POD) (Pradedova *et al.*, 2011). Essas enzimas antioxidantes auxiliam na proteção da integridade das membranas celulares, bem como no funcionamento normal das células. Em produtos minimamente processados, espera-se que a atividade de enzimas relacionadas com a defesa do vegetal (como PAL, POD e PPO) seja maior como resposta ao estresse gerado pelo corte e manipulação (Toivonen e Brummell, 2008).

O estresse oxidativo está diretamente relacionado com a atividade de PPO e POD, uma vez que essas enzimas reagem com substratos formados pelo estresse, como compostos fenólicos e peróxidos de hidrogênio. A atividade da PPO para as beterrabas sem arginina apresentou tendência de aumento ao longo dos dias (Figura 12A). Beterrabas com arginina tiveram alguma oscilação durante o armazenamento, mas a maioria mostrou redução na atividade de PPO no último dia. Nos primeiros dias de armazenamento não se observou diferenças significativas entre os tratamentos. A partir do 6º dia as beterrabas sem arginina estavam com atividade enzimática superior em relação aos demais tratamentos. E, nas últimas avaliações (dias 9 e 12), foi possível observar distinção entre os tratamentos com arginina. As maiores doses de arginina promoveram as menores atividades de PPO.

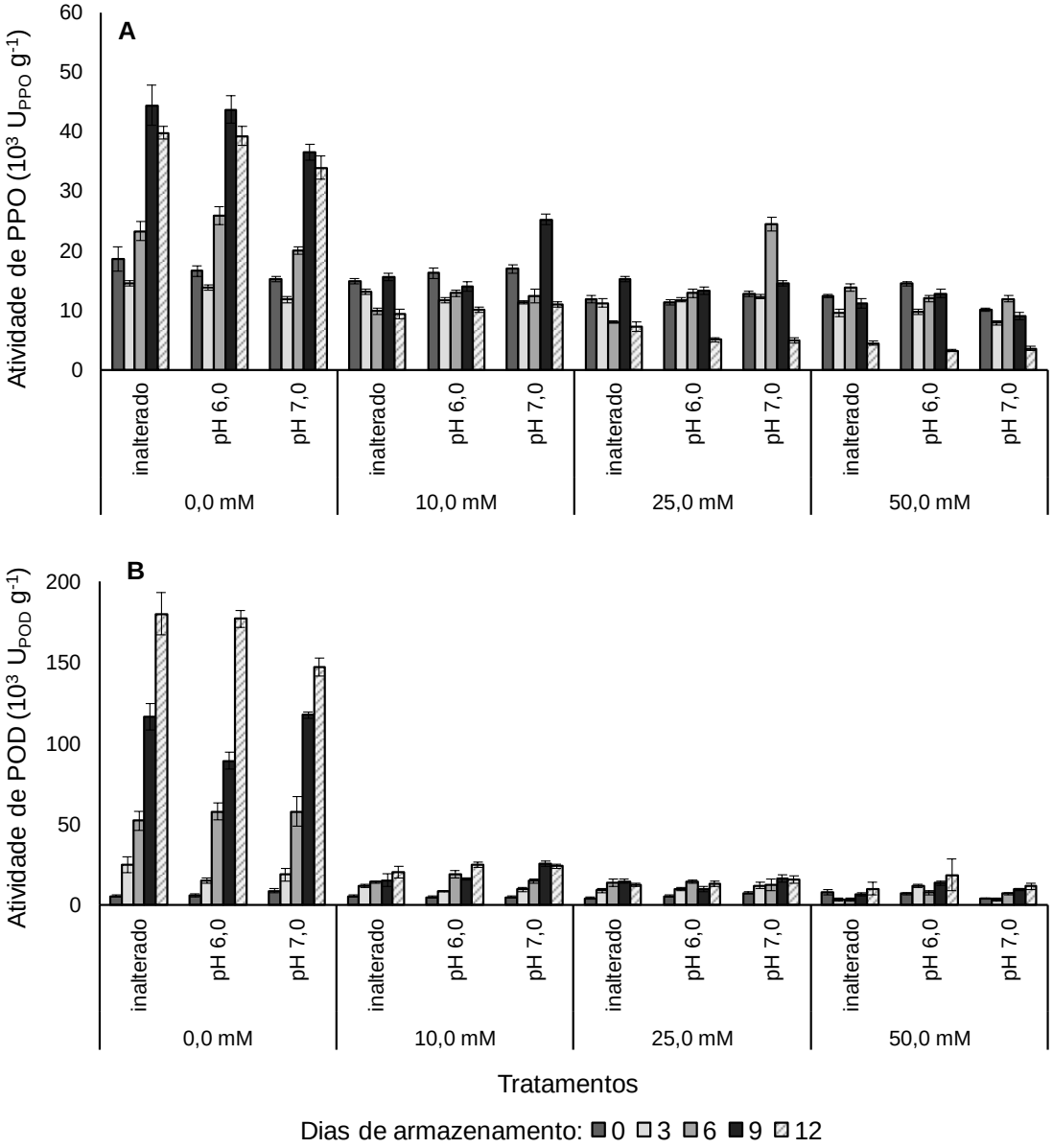

Figura 12. Atividade de Polifenol oxidase (A) e Peroxidase (B) em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Em relação à atividade da POD, não houve influência da alteração do pH nas doses de arginina durante o armazenamento. Pode-se observar um resultado bastante interessante relacionado às doses de arginina. As beterrabas sem arginina apresentaram aumento expressivo na atividade da POD durante o armazenamento (Figura 12B). Além disso, essas beterrabas tiveram os maiores valores de atividade desta enzima todos os dias, exceto no dia do processamento que foi iguais aos demais tratamentos. As beterrabas com arginina apresentaram pouca oscilação na atividade da POD. Os produtos com dosagens intermediárias

(10 e 25 mM) tiveram atividade da POD mediana, enquanto que a maior concentração (50 mM) causou a maior redução na atividade desta enzima.

2.4. DISCUSSÃO

A aplicação de arginina apresentou resultados promissores em relação à manutenção do aspecto visual e da vida útil das beterrabas minimamente processadas.

As análises de cor e de IE confirmaram os resultados das análises visuais. Conforme esperado, a luminosidade e o IE aumentaram ao longo do armazenamento, ao passo que a cromaticidade apresentou declínio. Os resultados mostraram alteração menos expressiva para as beterrabas tratadas com as maiores doses de arginina. A luminosidade e a cromaticidade são componentes da cor que representam bem a perda de qualidade visual nas beterrabas minimamente processadas. A luminosidade indica o quão claro é o produto. E a cromaticidade representa a saturação da cor, variando de fraca (valores baixos) a cor vívida (valores altos), podendo ser utilizado como indicativo de frescor das beterrabas (Chandra *et al.*, 2015).

A diminuição gradual na cromaticidade e o aumento no IE em beterrabas minimamente processadas durante o armazenamento foram observados em trabalhos anteriores (Kluge *et al.*, 2006; Chandra *et al.*, 2015). Esses resultados confirmam que este problema é muito recorrente para esta hortaliça. Os resultados deste trabalho apresentam a mesma tendência, porém para os produtos tratados com arginina essa variação não ocorreu de forma acelerada, principalmente para as doses maiores do aminoácido.

O esbranquiçamento é um problema que ocorre nas camadas superficiais dos produtos e pode ser reversível com a hidratação do produto, dependendo do grau de severidade. Consiste em uma barreira física formada por células danificadas e desidratadas, material de parede celular e resíduos de protoplasma que impedem a visualização das células preservadas e hidratadas nas camadas inferiores (Simões *et al.*, 2010). Da mesma forma como foi observado em Wills e Li (2016), a aplicação de arginina inibiu o escurecimento enzimático em alface e maçã, prolongando a vida útil desses produtos sem alteração do aspecto visual. No caso da beterraba, o incremento da vida útil se deve à inibição do esbranquiçamento, que pode ter ocorrido devido aos agentes de resposta ao estresse sintetizados a partir da arginina, preservando as camadas de células superficiais.

Além do aspecto visual, que é o mais evidente na decisão de compra do produto, outros aspectos relacionados ao metabolismo primário desses produtos também influenciam

na durabilidade e aspectos sensoriais. Como visto anteriormente, a taxa respiratória foi mantida baixa para as beterrabas tratadas com 10 e 25 mM de arginina em comparação com os tratamentos sem arginina ou com a dose mais elevada. O mesmo comportamento foi observado no trabalho de Li *et al.* (2014) com mamão tratado com NO. Doses elevadas de NO aceleraram o metabolismo e o amadurecimento dos frutos, enquanto as doses intermediárias apresentaram taxa respiratória mais baixa que o controle. A redução da taxa respiratória em frutas e hortaliças tratadas com NO foi relatada por outros autores, o que confirma o efeito deste tratamento no metabolismo primário desses produtos (Wills, 2015; Ren *et al.*, 2017).

As beterrabas minimamente processadas e não tratadas com arginina apresentaram comportamento do teor de sólidos solúveis totais opostos ao da taxa respiratória, ou seja, o aumento na taxa respiratória coincidiu com a redução do teor de sólidos solúveis. Isso pode ser explicado pelo consumo dos sólidos solúveis na respiração do produto. Para as beterrabas tratadas com arginina, esse padrão não foi observado. Houve variação no teor de sólidos solúveis, mas sem relação direta com a taxa respiratória. Provavelmente os subprodutos formados a partir da arginina reduziram a atividade respiratória e mantiveram a integridade da membrana plasmática, aumentando a retenção dos componentes e dos conteúdos celulares, como observado por Flores *et al.* (2008) ao tratar pêssegos com NO.

Alterações na composição química das beterrabas armazenadas ocorrem durante o armazenamento, principalmente quanto aos compostos de reserva, que tendem a diminuir dependendo do período de armazenamento e do metabolismo do produto. As enzimas relacionadas com o metabolismo de açúcares convertem sacarose em glicose e frutose, que são substratos para a respiração das beterrabas e também podem acumular nas células (Klotz e Haagenson, 2008; Kenter e Hoffmann, 2009). As beterrabas sem aplicação de arginina apresentaram elevada taxa respiratória inicial, o que pode ter aumentado o teor de açúcares redutores no final do armazenamento, estimulado pela degradação de sacarose, caracterizada pela redução no teor de açúcar total. Para os tratamentos com arginina, a redução no teor de açúcar total pode ter contribuído para o metabolismo da arginina em seus subprodutos, como NO e PAs. A degradação de arginina é regulada pelo estado nutricional das células. Uma vez que o conteúdo de açúcares é reduzido, ocorre um aumento substancial na atividade das enzimas arginase, urease e arginina descarboxilase, iniciando a sínteses das PAs (Borek *et al.*, 2001; Winter *et al.*, 2015). Por sua vez, um possível aumento das PAs poderia ter contribuído para a redução da respiração e de outros processos oxidativo, que afetam a qualidade do produto.

O teor de betalaínas e a capacidade antioxidante das betalaínas apresentaram resultados com o mesmo comportamento para a maioria dos tratamentos. A beterraba é considerada um dos alimentos com maior poder antioxidante, devido ao alto teor de betalaínas, principalmente de betanina (Žitňanová *et al.*, 2006). As betalaínas apresentam características químicas e estruturais que as tornam potentes antioxidantes, com capacidade antioxidante superior à das antocianinas e da vitamina C (Gengatharan *et al.*, 2015).

A capacidade antioxidante se mostrou mais estável para os produtos tratados com as doses mais elevadas de arginina. Isso pode representar que o metabolismo secundário foi, de certa forma, inibido devido à aplicação de arginina. Provavelmente, a arginina foi precursora de produtos como NO e PAs que agiram no combate ao estresse oxidativo, preservando as propriedades iniciais da beterraba minimamente processada, o que pode ser confirmado com os teores mais estáveis de betalaínas e compostos fenólicos nesses tratamentos.

Assim como relatado por Picoli *et al.* (2010), os teores de compostos fenólicos e de flavonois totais apresentaram pouca variação durante o armazenamento das beterrabas e não foram afetados significativamente pela aplicação de biorreguladores. Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário que conferem capacidade antioxidante a maioria dos produtos de origem vegetal e, geralmente são produzidos como compostos de defesa em resposta a algum tipo de estresse (Silva *et al.*, 2010). Os flavonois são compostos fenólicos pertencentes ao subgrupo dos flavonoides, que são responsáveis pela coloração, sabor, prevenção de oxidação lipídica e proteção de enzimas e vitaminas. Flavonois são os flavonoides mais abundantes em alimentos, principalmente em frutas e hortaliças (Kumar e Pandey, 2013).

Em aspargos tratados com L-arginina, o teor de compostos fenólicos totais decresceu durante o armazenamento, porém se manteve superior em relação aos brotos não tratados (Wang *et al.*, 2017). Esses autores também observaram que a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) foi inibida pela aplicação de arginina, o que provavelmente impediu a síntese desses compostos. Nos resultados com beterraba minimamente processada, observou-se que em algum período do armazenamento houve aumento no teor de compostos fenólicos, assim como para flavonois e betalaínas em alguns tratamentos. O metabolismo secundário pode ter estimulado a síntese de compostos de defesa em resposta ao estresse gerado durante o armazenamento. A dosagem de 25 mM de arginina promoveu estabilidade para esses compostos durante a maior parte do período de armazenamento, o que pode significar menor estresse gerado para esses produtos tratados em relação aos demais.

A arginina pode ter interferido na estabilidade das betalaínas e dos compostos fenólicos, uma vez que está relacionado com o metabolismo primário dos produtos, com a redução da taxa respiratória, e também com metabolismo secundário, com o provável controle de enzimas, como POD e PPO. Em trabalhos recentes, a aplicação de NO causou efeitos semelhantes. Em lichia, por exemplo, a aplicação de nitroprussiato de sódio (SNP), como fonte de NO, promoveu o aumento da vida útil dos frutos, com maiores teores de compostos bioativos (compostos fenólicos e antocianinas), maior capacidade antioxidante e redução de escurecimento enzimático em relação aos frutos sem tratamento (Barman *et al.*, 2014).

Beterrabas minimamente processadas sem tratamento com arginina apresentaram atividade dessas enzimas com comportamento totalmente diferente das beterrabas tratadas com o aminoácido. A redução expressiva na atividade de POD e PPO pode estar relacionada com o efeito anti-estresse promovido pelos agentes de defesa formados a partir da arginina, como PAs e NO. Pode-se inferir que a redução significativa da atividade dessas enzimas para as beterrabas tratadas com arginina se deve pela menor formação de EROs. De acordo com Babalar *et al.* (2018), a aplicação de arginina em romã promoveu maior integridade da membrana celular, que junto com a ação de enzimas antioxidantes (SOD, APX e CAT) reduziu o acúmulo de H_2O_2 atenuando o desenvolvimento de injúrias por frio. Além disso, os autores observaram aumento nos teores de compostos fenólicos promovidos pela alta atividade da PAL e menor atividade da PPO nos frutos tratados com arginina.

Trabalhos como os de Babalar *et al*. (2018) e Wills e Li (2016) reforçam o potencial de aplicação de arginina sobre o combate ao estresse oxidativo em produtos hortícolas. Os resultados encontrados para arginina em beterraba minimamente processada estão de acordo com outros trabalhos da literatura e confirma a aplicação desse aminoácido como agente anti-estresse capaz de preservar a qualidade visual e nutricional desses produtos.

2.5. 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 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.

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^{-1}) e ácido ascórbico (2000 mg L^{-1}). 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-senescência 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; 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

minmal processing flowchart. Treatments consisted of: destilled water (control), arginine solution (25 mM pH 7,0), cysteine solution (8 mM), citric acid solution (2000 mg L^{-1}) and ascorbic acid solution (2000 mg L^{-1}). Storage was performed at 5ºC 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.

Keywords: *Beta vulgaris* L.; White blush; Arginine; Cysteine; Citric acid; Ascorbic acid

3.1. INTRODUÇÃO

A beterraba (*Beta vulgaris* L.) é uma hortaliça de grande importância para a alimentação humana, por apresentar elevado teor de vitaminas A e do complexo B, potássio, ferro, sódio, cobre e zinco, além de ser fonte de compostos bioativos, como betalaínas e compostos fenólicos (Tivelli, 2011). Essa hortaliça pode ser consumida como saladas cruas ou cozidas, conservas, sucos, e também é muito utilizada como corante alimentar. Ultimamente, a busca por alimentação saudável e funcional está em ascensão, o que possibilita o maior desenvolvimento em técnicas de processamento mínimo de hortaliças.

Produtos minimamente processados são frutas e hortaliças que foram submetidos a alterações físicas, como descascamento e corte, porém preservando sua atividade metabólica e seu frescor (Lamikanra, 2002; Moretti, 2007). Esta forma de comercialização de hortaliças, além de agregar valor, alia a praticidade e segurança à uma alimentação saudável. Entretanto, a redução da vida útil desses produtos é um aspecto desfavorável do processamento. O estresse gerado pelas etapas de preparo do produto acelera o metabolismo causando aumento da taxa respiratória, descoloração de superfície e escurecimento enzimático, culminando na perda de valor nutricional e de qualidade (Cenci, 2011). No caso da beterraba minimamente processada, o principal problema encontrado após o processamento é a degradação do aspecto visual causado pela desidratação das camadas de células superficiais, conhecido como esbranquiçamento ou *white blush* (Simões *et al.*, 2010; Kluge e Preczenhak, 2016).

Outro fator agravante do processamento mínimo é a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), que atacam principalmente as membranas das células (peroxidação lipídica), permitindo extravasamento do conteúdo celular e desidratação, agravando o desenvolvimento do esbranquiçamento (Toivonen, 2004). O estresse oxidativo é caracterizado pela produção de radicais livres que prejudicam o funcionamento normal das células. Como forma de proteção e desintoxicação, as células respondem com o aumento da atividade de enzimas antioxidantes, que sequestram e neutralizam esses radicais (Gill e Tuteja, 2010).

Estes problemas podem ser amenizados pelo emprego de controle de temperatura e umidade relativa do ar nas câmaras de armazenamento, além da utilização de atmosfera modificada e de aplicação de aditivos químicos durante o processamento. Aditivos do tipo "GRAS" (*generally reconized as safe,* que em português seria geralmente reconhecido como seguros) podem ser utilizados em alimentos com segurança e oferecem resultados satisfatórios no processamento mínimo (Oms-Oliu *et al.*, 2010). 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 conhecidos, como os aminoácidos, também são compostos com características interessantes para preservação de produtos frescos. Cisteína e arginina 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). Diante desse cenário, o objetivo deste trabalho foi comparar a eficácia de diferentes aditivos no controle do esbranquiçamento e oxidação enzimática em beterraba minimamente processada.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Material Vegetal

Beterrabas Híbrido Boro F1 foram obtidas de unidade beneficiadora em Piedade, no Estado de São Paulo (23º 42' 43" S, 47º 25' 40" W). As hortaliças foram lavadas e selecionadas de acordo com parâmetros de tamanho e calibre estabelecidos pela unidade beneficiadora, em seguida foram transportadas para Piracicaba/SP e rigorosamente

selecionadas quanto a ausência de injúrias mecânicas e patológicas. Após, foram pré-resfriadas em câmara fria a 10°C para serem minimamente processadas no dia seguinte.

3.2.2. Preparo do produto minimamente processado

O processamento mínimo da hortaliça foi realizado em ambiente devidamente higienizado e refrigerado (15°C), sendo utilizado o fluxograma adaptado de Vitti (2003), seguindo o detalhamento das operações:

a. **Sanitização do produto inteiro com casca**: o material foi submerso em solução sanitizante (dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa a 8% na dosagem de 1,5 ml L^{-1}) por 15 minutos e drenado em seguida.
b. **Descascamento**: as beterrabas foram descascadas mecanicamente utilizando-se uma descascadora industrial (marca Skymsen, modelo DP-06, Brusque, Santa Catarina, Brasil) com disco abrasivo.
c. **Sanitização 1**: para reduzir a microbiota após o descascamento, o material foi tratado por 10 minutos em solução sanitizante (dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa a 8% na dosagem de 1,5 ml L^{-1}) e drenado em seguida.
d. **Corte**: as beterrabas foram submetidas ao corte em forma de retalhos (espessura 4 mm) utilizando-se uma processadora (Robot Coupe® CL 50 ultra, Vincennes, França).
e. **Sanitização 2**: o material foi tratado por 5 minutos em solução sanitizante (dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa a 8% na dosagem de 1,5 ml L^{-1}), sendo drenado em seguida.
f. **Centrifugação 1**: foi realizada centrifugação de 30 segundos com velocidade constante equivalente a 800 x *g* para retirada do excesso de umidade e para evitar a diluição dos tratamentos.
g. **Enxague/Aplicação de Tratamento**: foi realizado durante 5 minutos em água destilada ou solução com aditivo.
h. **Centrifugação 2**: foi realizada nova centrifugação de 30 segundos com velocidade constante equivalente a 800 x *g* para retirada do excesso de umidade.
i. **Porcionamento e embalagem:** amostras de 200 g foram acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido e embaladas com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 14 µm.

3.2.3. Tratamentos

Foram testados quatro aditivos: arginina, cisteína, ácido cítrico e ácido ascórbico. As beterrabas foram minimamente processadas de acordo com o fluxograma descrito no item 2.2 e os tratamentos foram aplicados após a primeira centrifugação (etapa f), em substituição do enxágue (etapa g) por 5 minutos. Em seguida, foi realizada nova centrifugação (etapa h) para remoção do excesso de umidade e melhor apresentação do produto. Os tratamentos foram constituídos da seguinte forma:

Tratamento 1 (controle): Água destilada

Tratamento 2: Arginina na concentração de 25,0 mM e pH 7,0

Tratamento 3: Cisteína na concentração de 8,0 mM

Tratamento 4: Ácido Cítrico (AC) na concentração de 2000 mg L^{-1}

Tratamento 5: Ácido ascórbico (AA) na concentração de 2000 mg L^{-1}

As avaliações foram realizadas no dia do processamento (dia 0) e a cada três dias durante 12 dias, totalizando 5 períodos de análises (dias: 0, 3, 6, 9 e 12). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 5 (tratamentos x dias de análise), com três repetições de 200 g.

3.2.4. Determinações

Análise visual: a análise visual foi realizada por atribuição de notas para os parâmetros esbranquiçamento, opacidade e brilho, realizadas sempre pelo mesmo analista. A escala de notas para esbranquiçamento e opacidade variaram de 1 a 5, sendo 1 = nenhum; 2 = pouco; 3 = médio; 4 = alto; 5 = muito alto. Para brilho as notas variaram de 1 a 5, sendo que 1 = muito baixo; 2 = baixo; 3 = médio; 4 = alto; e 5 = muito alto (Figura 1).

Cor: a cor instrumental foi determinada por meio de leitura direta sobre o produto utilizando colorímetro digital (Minolta Chroma Meter CR-400), em oito pontos de cada repetição (bandeja de 200 g). Foram determinados os valores do modo CIE L* a* b*, utilizados para o cálculo da cromaticidade (C), segundo McGuire (1992) e o índice de esbranquiçamento.

Índice de esbranquiçamento: o índice de esbranquiçamento (IE) foi calculado de acordo com a metodologia de Boun e Huxsoll (1991), utilizando a seguinte equação:

$$IE = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

Quanto maior o IE, maior é a intensidade de esbranquiçamento do produto.

Taxa respiratória: para a determinação da taxa respiratória, o produto foi acondicionado em frascos de vidro com capacidade de 600 mL e tampa de metal com septo de silicone. Os frascos com aproximadamente 80 g de produto ficaram herméticos por 1 hora a 5°C. Amostras de 0,5 mL do gás interno foram coletadas e injetadas em cromatógrafo a gás (Thermo Electron Corporation, modelo Trace GC Ultra) com detector de ionização de chama (FID), tendo hidrogênio como gás de arraste a um fluxo de 30 mL min^{-1}. As temperaturas utilizadas foram de 110ºC na coluna, 140ºC no injetor, 250ºC no detector e 350ºC no metanador. A atividade respiratória foi calculada com base nos resultados obtidos das determinações cromatográficas, na massa do produto contida no interior do frasco, no volume do frasco e no tempo em que os frascos permaneceram fechados. Os resultados foram expressos em mL CO_2 kg^{-1} h^{-1}.

Teor de sólidos solúveis: as amostras foram trituradas em multiprocessador e o suco extraído foi utilizado para a leitura em refratômetro digital (Modelo ATAGO, PR 100, Japão). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Teor de açúcares (redutores e totais): O extrato de açúcares foi realizado com adição de 10 mL de etanol 80% em 0,01 g de amostra liofilizada. Após agitação e centrifugação, o sobrenadante foi coletado para realização das análises de açúcares redutores, pelo método de Somogyi-Nelson (Nelson, 1944; Somogyi, 1952) e de açúcares totais, de acordo com a metodologia de Dubois *et al.* (1956). Os resultados foram calculados por meio de curva padrão com glicose e expressos em porcentagem de açúcares redutores ou totais em relação à amostra liofilizada.

Teor de Betalaínas (betacianina e betaxantina): a extração das betalaínas foi realizada com adição de 10 mL do tampão Britton-Robinson 40 mmol L^{-1} e pH 6,0 em 0,1 g de amostra liofilizada e o teor de betalaínas foi determinado seguindo a metodologia proposta por Stintzing *et al.* (2005), utilizando leitura em espectrofotômetro em comprimento de ondas específicas para betacianinas e betaxantinas (538 nm e 480 nm, respectivamente). A quantificação foi realizada pela fórmula:

$$Betalaína\ (mg\ g^{-1}) = A \times DF \times MW \times 1000 \times \varepsilon \times l$$

Onde: A = valor de absorção correspondente ao máximo de absorção corrigida em leitura espectrofotométrica a 600 nm; DF = fator de diluição; MW = peso molecular específico para betacianina e betaxantina; ε = coeficiente de extinção molar; l = espessura da cubeta.

Capacidade antioxidante (ABTS): a metodologia utilizada foi uma adaptação dos trabalhos de (Berg *et al.*, 1999; Re *et al.*, 1999; Arts *et al.*, 2004). A leitura

espectrofotométrica foi realizada em 734 nm, utilizando o Trolox como referência para a curva padrão. Os resultados foram expressos em TEAC, atividade antioxidante equivalente ao Trolox na base seca (µmol TEAC g^{-1} de amostra liofilizada).

Teor de compostos fenólicos totais: os compostos fenólicos foram mensurados pelo reativo Folin-Ciocauteau, conforme Singleton e Rossi (1965). O extrato fenólico foi realizado com a adição de 10 mL de metanol 80% em 0,1 g de amostra liofilizada. Após agitação, o extrato ficou em repouso no escuro por 2 horas em temperatura ambiente. Em seguida, o extrtato foi centrifugado e o sobrenadante coletado para análise. Em 0,2 mL do extrato fenólico foram adicionados 1,5 mL de água destilada e 0,1 mL de reagente Folin-Ciocauteau P.A., após agitação e repouso adicionou-se 0,2 mL de carbonato de sódio 20%. A reação foi encubada durante duas horas no escuro e as leituras espectrofotométricas foram realizadas a 765 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (padrão) por g de massa seca de beterraba (mg EAG g^{-1}).

Teor de flavonois totais: a determinação de flavonois totais foi realizada conforme descrito por Lees e Francis (1972), com modificações na quantidade de amostra utilizada de 100 g para 0,2 g de beterraba liofilizada e 10 mL de solução extratora de etanol a 95% e HCl a 1,5 N (85:15 v/v). A extração ocorreu por 24 h em ambiente refrigerado e protegido de luz. Em seguida, o extrato foi filtrado em papel de filtro e o volume completado para 50 mL. Após 2 horas de repouso no escuro, as leituras espectrofotométricas foram realizadas em comprimento de onda de 374 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente em quercetina (EQ) por g de amostra liofilizada (mg EQ g^{-1} MS).

Atividade da Polifenol oxidase (EC 1.10.3.1): a atividade da PPO foi determinada conforme metodologia adaptada de Giner *et al.* (2001). Para o extrato enzimático, foram adicionados 5 mL de tampão fosfato-citrato 0,1 M pH 6,5 contendo 1 M de NaCl e 10 g L^{-1} de polivinilpirrolidona 10 em 0,01 g de amostra liofilizada. Após agitação e centrifugação, o sobrenadante foi coletado (extrato enzimático). Todo o processo de extração ocorreu sob baixa temperatura. As leituras de absorbância foram realizadas em comprimento de onda de 420 nm imediatamente após a adição de 2 mL de pirocatecol 0,05 M em 0,03 mL de extrato enzimático e depois de três minutos, com a estabilização da reação. Os resultados foram expressos em unidade enzimática por grama de amostra liofilizada (U_{PPO} g^{-1} MS). Uma unidade enzimática foi considerada arbitrariamente como sendo o aumento na leitura espectrofotométrica de 0,001 por minuto.

Atividade da Peroxidase (EC 1.11.11.7): a atividade da POD foi realizada de acordo com o método proposto por Hemeda e Klein (1990). O extrato enzimático foi

realizado com a adição de 5 mL de acetato de sódio 100 mM pH 5,0 contendo 10 g L^{-1} de polivinilpirrolidona 10 em 0,02 g de amostra liofilizada. O extrato enzimático foi obtido pela coleta do sobrenadante após agitação e centrifugação. Todo o processo foi realizado em ambiente refrigerado. As leituras espectrofotométricas foram realizadas em comprimento de onda de 470 nm e a reação com guaiacol foi acompanhada até estabilização (cinco minutos). Os resultados foram expressos da mesma forma que a atividade da PPO, em unidade enzimática por grama de amostra liofilizada (U_{POD} g^{-1} MS).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Análise visual

A análise visual por atribuição de notas representa a percepção do consumidor em relação às beterrabas minimamente processadas quanto aos seguintes aspectos: esbranquiçamento, brilho e opacidade. Do ponto de vista comercial, o esbranquiçamento alto (nota ≥ 4), brilho baixo (nota ≤ 2) e opacidade alta (nota ≥ 4) representam produtos inaptos à comercialização.

Nesse sentido, pode-se observar que apenas o tratamento com arginina foi eficaz na conservação do aspecto visual da beterraba minimamente processada por 12 dias (Figura 13). O desenvolvimento do esbranquiçamento foi mais acelerado nos demais tratamentos, o que afeta diretamente o brilho e opacidade dos produtos (Figura 14). O tratamento com ácido ascórbico retardou a depreciação visual das beterrabas, porém até o 9º dia. As beterrabas tratadas com os demais aditivos apresentaram aspecto visual prejudicado mais precocemente, uma vez que os produtos estavam aptos para a comercialização até o 6º dia.

Figura 13. Evolução da aparência de beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

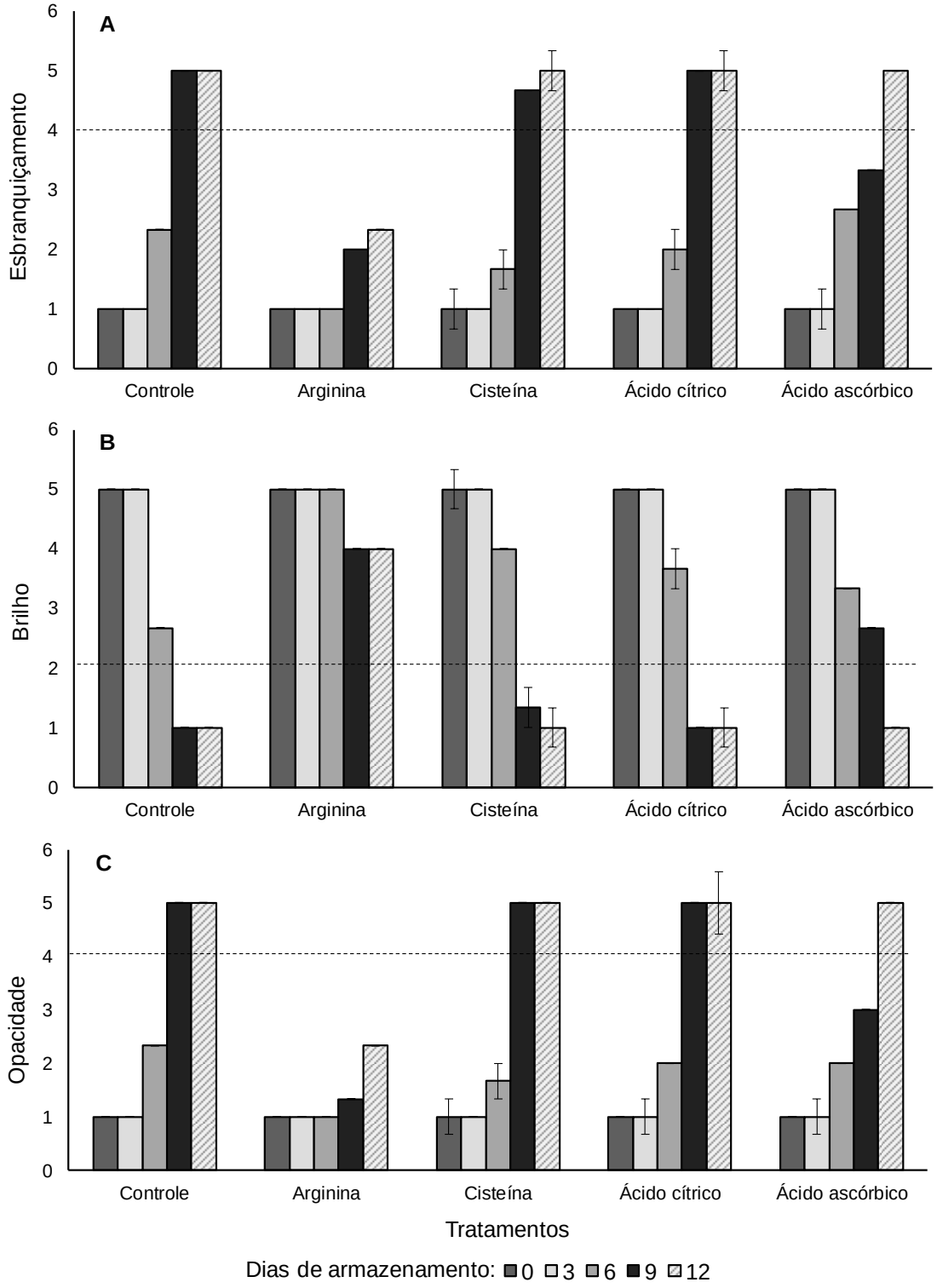

Figura 14. Esbranquiçamento (A), brilho (B) e opacidade (C) para beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Notas para esbranquiçamento e brilho: 1 – nenhum e 5 – muito alto; e para opacidade: 1 – muito alto e 5 – muito baixo. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

3.3.2. Luminosidade e cromaticidade

Os parâmetros de cor que são mais perceptíveis e estão mais associados ao esbranquiçamento são a luminosidade (L*), a qual representa a percepção de claro ou escuro, e a cromaticidade (C), que representa a intensidade de uma cor, em que valores maiores indicam cores mais fortes e vivas. Para beterraba minimamente processada, os valores médios aproximados de luminosidade e cromaticidade imediatamente após o processamento foram de 18 e 33, respectivamente (Figura 15). Com o avanço dos dias nas condições de armazenamento, observou-se aumento da luminosidade e redução da cromaticidade, resultando em um produto com aspecto desidratado e esbranquiçado. Não houve diferença estatística entre os tratamentos até o 3º dia, tanto para luminosidade quanto para cromaticidade. O aumento da luminosidade durante o armazenamento da beterraba minimamente processada foi mais acentuado para o controle em comparação com os demais tratamentos (Figura 15A). A luminosidade das beterrabas tratadas com cisteína, ácido cítrico e ácido ascórbico aumentou gradualmente a partir do 6º dia, alcançando valores semelhantes ao controle no final do período. A aplicação de arginina retardou o aumento da luminosidade, de forma que este parâmetro apresentou pouca variação no período de 12 dias de armazenamento, aproximadamente metade da variação dos demais tratamentos.

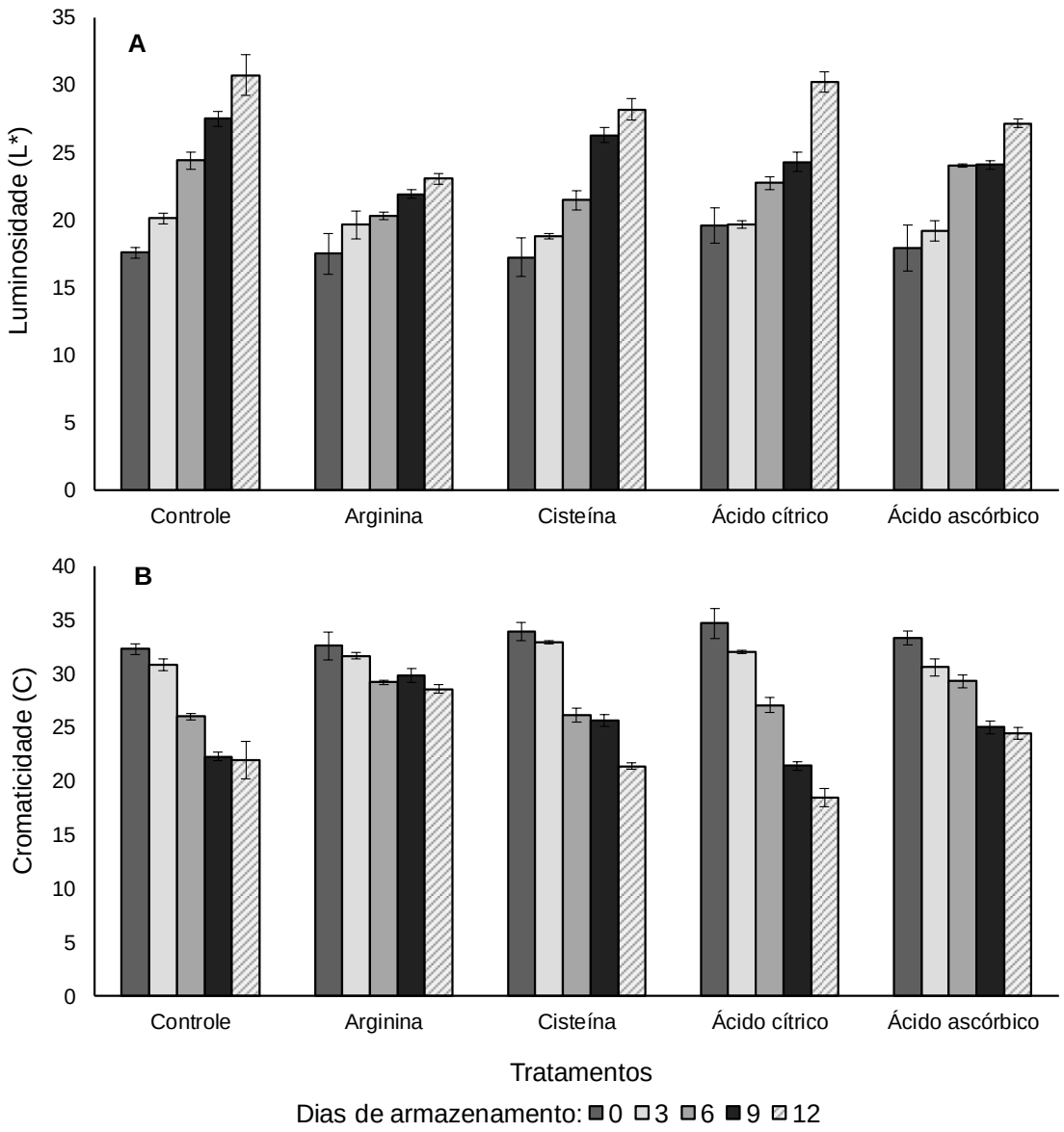

Figura 15. Luminosidade (A) e cromaticidade (B) em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

A arginina também mostrou resultados satisfatórios para a cromaticidade, uma vez que reduziu a variação desse parâmetro durante o armazenamento (Figura 15B). A partir do 9º dia de armazenamento, apenas as beterrabas tratadas com arginina apresentaram intensidade de cor mais elevada em relação aos demais tratamentos. Nos demais tratamentos houve redução nos valores de cromaticidade, sendo mais expressiva para os tratamentos com ácido cítrico e cisteína, seguidos do controle e tratamento com ácido ascórbico. No fim do armazenamento, apenas as beterrabas tratadas com arginina apresentaram parâmetros de cor adequados para a comercialização e consumo do produto.

3.3.3. Índice de esbranquiçamento (IE)

O índice de esbranquiçamento determina o quanto a superfície do produto está com aspecto esbranquiçado e desidratado. No caso da beterraba minimamente processada, o produto recém-processado apresenta IE próximo a 10. Quanto maior o valor do IE, mais aspecto esbranquiçado o produto apresenta. O IE limitante para o produto em questão está na faixa de 16 a 18, o que indica uma beterraba com a aparência afetada e um produto inapto para a comercialização.

Todos os tratamentos mostraram aumento no IE com o decorrer do tempo de armazenamento (Figura 16). Entretanto, este aumento foi mais expressivo no controle, tratamento com ácido cítrico, cisteína e ácido ascórbico. Apenas as beterrabas tratadas com arginina apresentaram aumento menos pronunciado do IE, atingindo valor menor que 18 no último dia de análise. Todos os tratamentos, exceto o de arginina, obtiveram IE limitante a partir do 6º dia de avaliação.

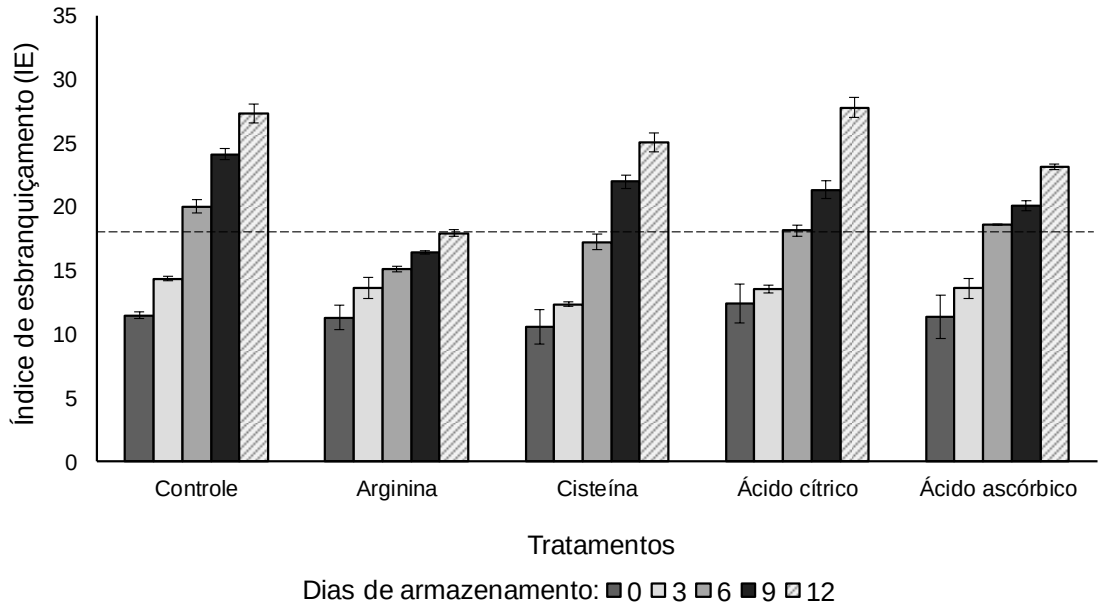

Figura 16. Índice de esbranquiçamento em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Linha segmentada indica valor limitante. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

3.3.4. Taxa respiratória

A taxa respiratória foi crescente para a maioria dos tratamentos, atingindo o maior valor no 6º dia, exceto para o tratamento com arginina que apresentou aumento expressivo no

9º dia e só atingiu a maior taxa no 12º dia (Figura 17). As maiores variações na taxa respiratória foram observadas no controle, tratamento com cisteína e ácido ascórbico, que apresentaram taxa respiratória mais que três vezes maior no 6º dia em relação ao primeiro dia. A taxa respiratória para esses tratamentos no 6º dia estava próxima de 100 mL CO_2 kg^{-1} h^{-1}, enquanto que para o tratamento com arginina ficou abaixo de 20 mL CO_2 kg^{-1} h^{-1}, ou seja, cinco vezes menor. Esses resultados podem se relacionar com o atraso no desenvolvimento de esbranquiçamento nas beterrabas tratadas com arginina.

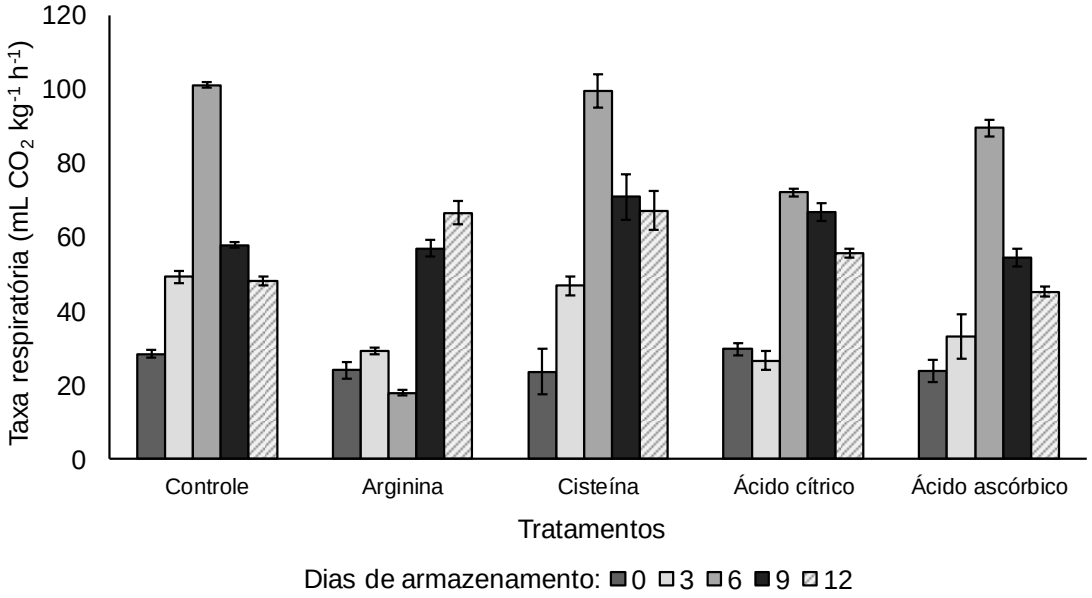

Figura 17. Taxa respiratória em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4).

3.3.5. Teor de sólidos solúveis e de açúcares redutor e total

Para teor de sólidos solúveis não houve interação significativa entre os fatores aditivos e dias de armazenamento. As variações observadas em todos os tratamentos não foram significativas (Figura 18A) a ponto de interferir no aspecto sensorial do produto, uma vez que a variação foi menor que 1%, o que é considerado pouco perceptível ao paladar. Entretanto, ao avaliar apenas a influência dos aditivos aplicados pode-se observar diferenças significativas entre eles. O aditivo que resultou em maior teor de sólidos solúveis foi a arginina, seguida do controle (sem aditivo), e os demais (cisteína, ácido cítrico e ácido ascórbico), que apresentaram os menores teores.

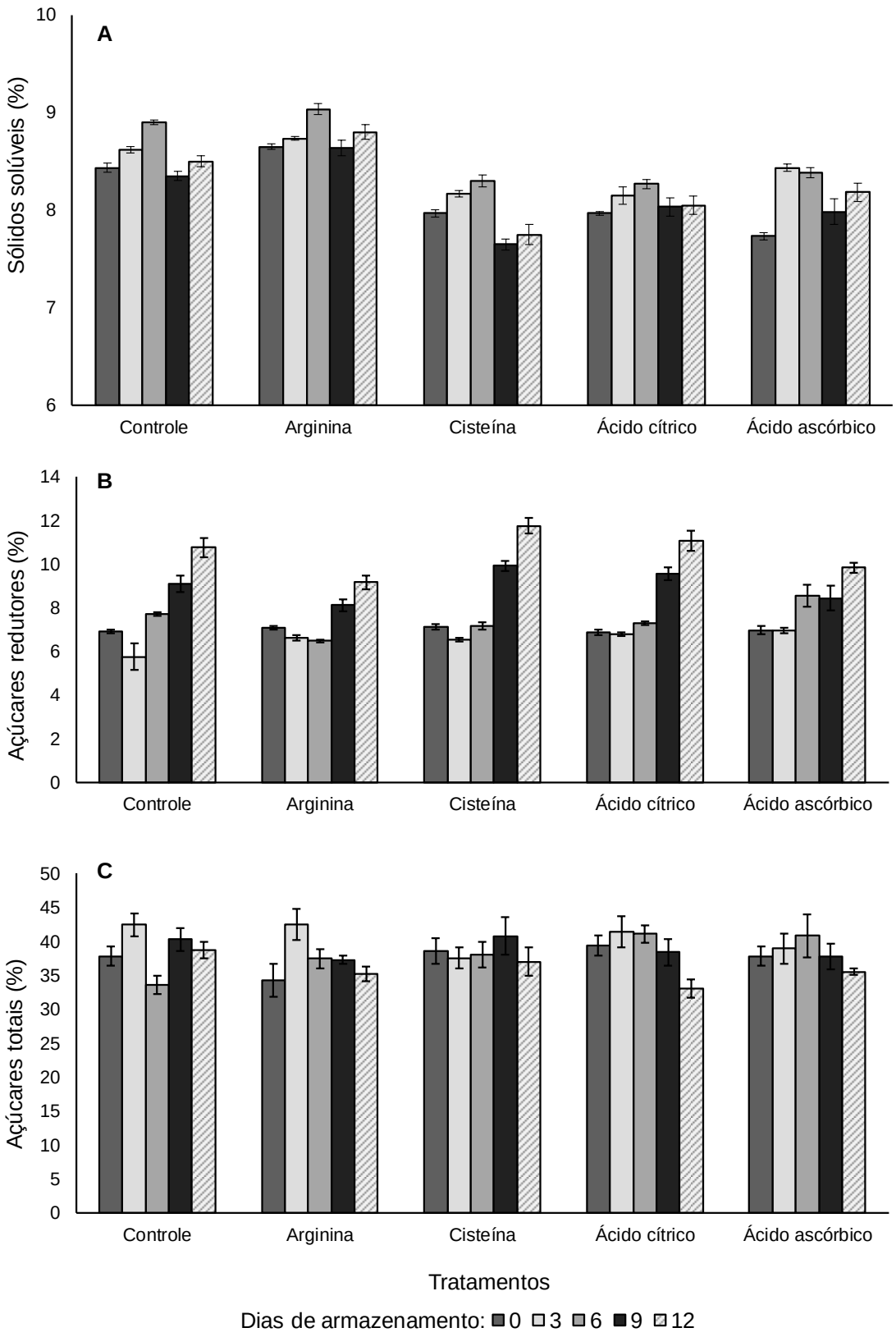

Figura 18. Teor de sólidos solúveis (A), de açúcares redutores (B) e de açúcares totais (C) em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Os carboidratos, em geral, são substratos do processo de respiração, portanto, esperava-se que o aumento da taxa respiratória implicasse na maior conversão de açúcares complexos em açúcares redutores (glicose e frutose). O teor de açúcares é um dos parâmetros que indica a qualidade de beterrabas, uma vez que essa hortaliça possui sabor adocicado característico.

Em relação aos açúcares redutores (AR), observou-se estabilidade para a maioria dos tratamentos até o sexto dia de armazenamento, porém as beterrabas tratadas com ácido ascórbico e do controle apresentaram aumento de 23 e 33% de AR neste dia em relação ao dia anterior (Figura 18B). A partir do nono dia, os teores de AR apresentaram aumento expressivo para todos os tratamentos, exceto para as beterrabas tratadas com arginina, que demonstraram crescimento menos intenso. Durante todo o armazenamento, o tratamento com arginina se destacou por ficar entre os tratamentos com menor aumento no teor de AR, com cerca de 30% em comparação com o início do armazenamento. Enquanto que o controle e tratamentos com cisteína e ácido cítrico apresentaram aumento nos teores de AR de 55%, 64% e 60%, respectivamente.

Em relação ao teor de açúcares totais, apesar de haver conversão de açúcares ao longo do armazenamento, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 18C). Esse resultado confirma que a alteração observada no teor de sólidos solúveis não é expressiva a ponto de causar alteração no sabor do produto.

3.3.6. Teor de betalaínas (betacianina e betaxantina)

As betalaínas são os principais compostos que conferem a coloração e a capacidade antioxidante das beterrabas. Esses pigmentos podem ser divididos em betacianinas (coloração avermelhada) e betaxantinas (coloração amarelada). Em relação às betacianinas, cujo principal representante na beterraba vermelha é a betanina, observou-se que não houve variação significativa nos teores desse pigmento para a maioria dos tratamentos (Figura 19A). Apenas os produtos tratados com cisteína apresentaram redução significativa nos seus teores no último dia de avaliação.

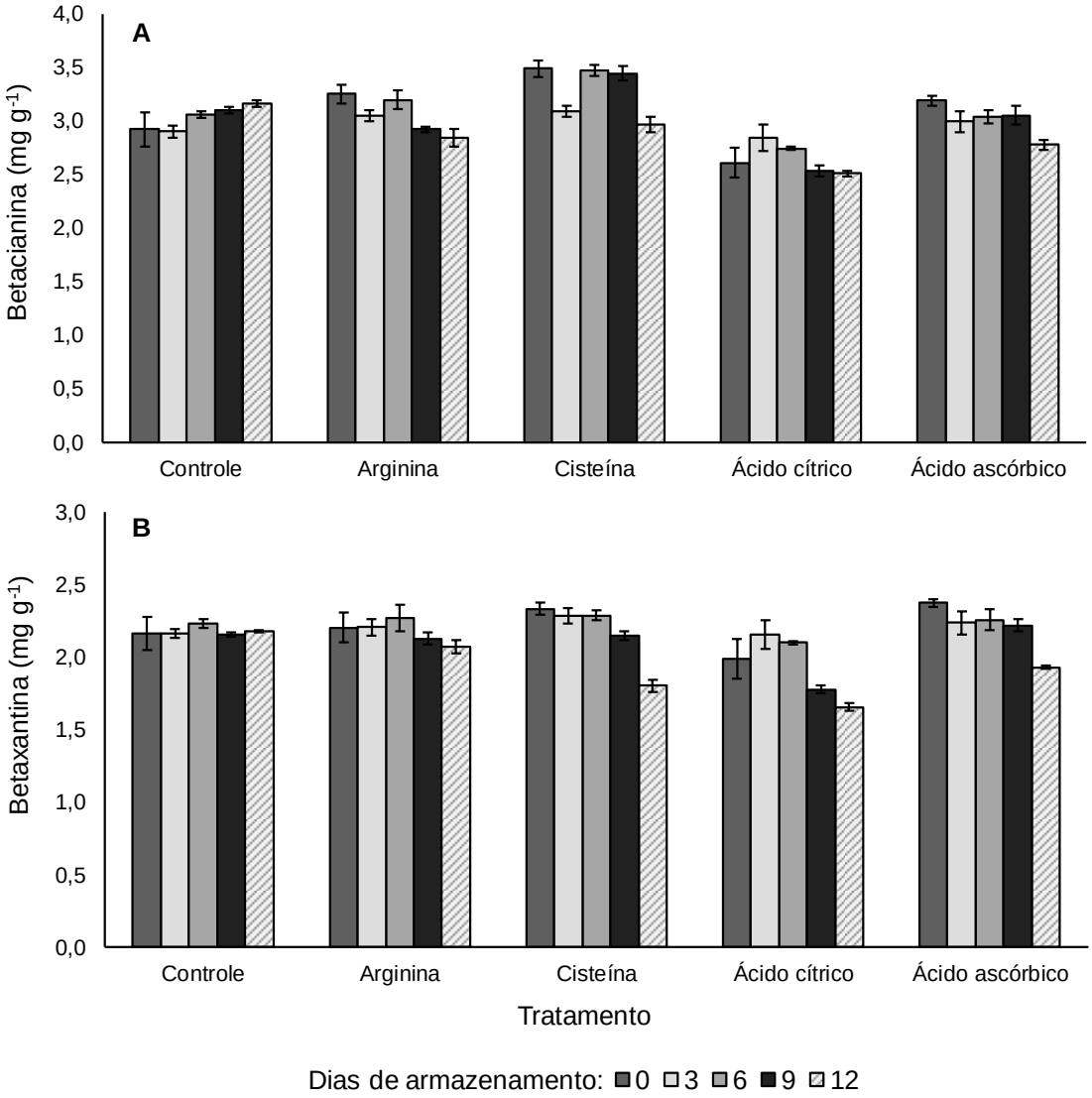

Figura 19. Teor de betalaínas - betacianina (A) e betaxantina (B), em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Apesar dessa redução, quando comparados os tratamentos dentro de cada dia isoladamente, observou-se que a aplicação de cisteína promoveu os maiores teores de betacianina em relação aos demais tratamentos para quase todos os dias. Em contrapartida, o tratamento com ácido cítrico se destacou por apresentar os menores teores de betacianina desde o primeiro dia (aproximadamente 20% a menos) e durante praticamente todo o armazenamento.

Para as betaxantinas, cujo principal pigmento para este híbrido é a vulgaxantina I, não se observou alterações significativas durante o armazenamento (Figura 19B). Porém, na comparação entre os tratamentos, da mesma forma que ocorreu com as betacianinas, a aplicação de ácido cítrico apresentou teores mais baixos de betaxantinas (cerca de 10% a

menos). Não houve interação significativa entre os tratamentos e os dias de armazenamento para o teor de betaxantinas.

3.3.7. Capacidade antioxidante (ABTS)

A capacidade antioxidante da beterraba é conferida principalmente a partir das betalaínas. Nos três primeiros dias, todos os tratamentos apresentaram estabilidade na capacidade antioxidante, porém os produtos tratados com cisteína apresentaram maior capacidade enquanto que os tratados com arginina se destacaram por estarem abaixo dos demais tratamentos (Figura 20). Apesar disso, as beterrabas tratadas com arginina e sem tratamento (controle) mantiveram a capacidade antioxidante inicial até o sexto dia, enquanto que os tratamentos com cisteína, ácido cítrico e ácido ascórbico apresentaram redução na capacidade de sequestrar radicais livres em relação ao terceiro dia de 27%, 36% e 36%, respectivamente. A redução mais significativa para o controle e tratamento com arginina ocorreu no 9º dia, com redução de 50% e 43%, respectivamente.

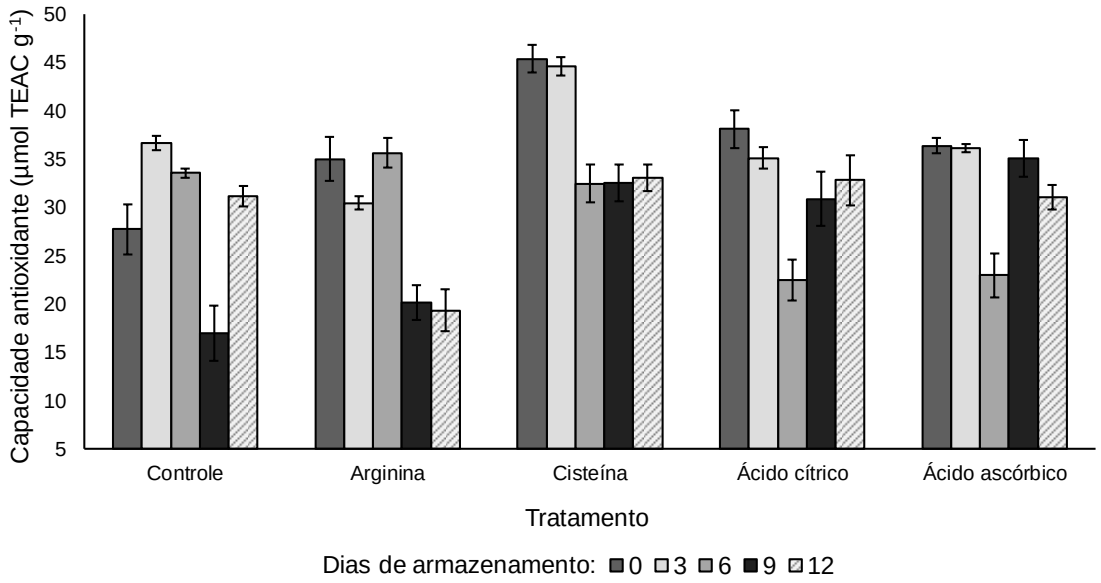

Figura 20. Capacidade antioxidante (ABTS) em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

No último dia de armazenamento o controle e os tratamentos com ácidos orgânicos apresentaram recuperação da capacidade antioxidante. Os tratamentos com arginina e cisteína

mantiveram a capacidade antioxidante reduzida, porém a arginina se destacou por ter menor capacidade antioxidante em relação aos demais tratamentos.

3.3.8. Teor de compostos fenólicos totais

Para o teor de compostos fenólicos totais, observou-se que o tanto o tratamento controle quanto o tratamento com arginina não apresentaram variação significativa durante o armazenamento; tais tratamentos foram também os que apresentaram os menores valores iniciais (no dia do processamento), com valores próximos a 6,5 mg EAG g^{-1}. O produto tratado com ácido ascórbico, por sua vez, foi o que apresentou maior valor inicial de compostos fenólicos (9,5 mg EAG g^{-1}), com posterior redução no 3º dia e estabilização até o final do armazenamento (Figura 21). Os tratamentos com cisteína e ácido cítrico tiveram comportamento semelhante; ambos tiveram valor inicial de compostos fenólicos de aproximadamente 8,5 mg EAG g^{-1} e demonstraram um decaimento expressivo até o 6º dia, quando atingiram o menor valor (5,9 mg EAG g^{-1}) e tiveram aumento nos seus valores novamente até o fim do experimento, sendo a ascensão do ácido cítrico maior que a da cisteína. No último dia de avaliação, as beterrabas tratadas com ácido cítrico apresentaram maior teor de compostos fenólicos em comparação com os demais tratamentos.

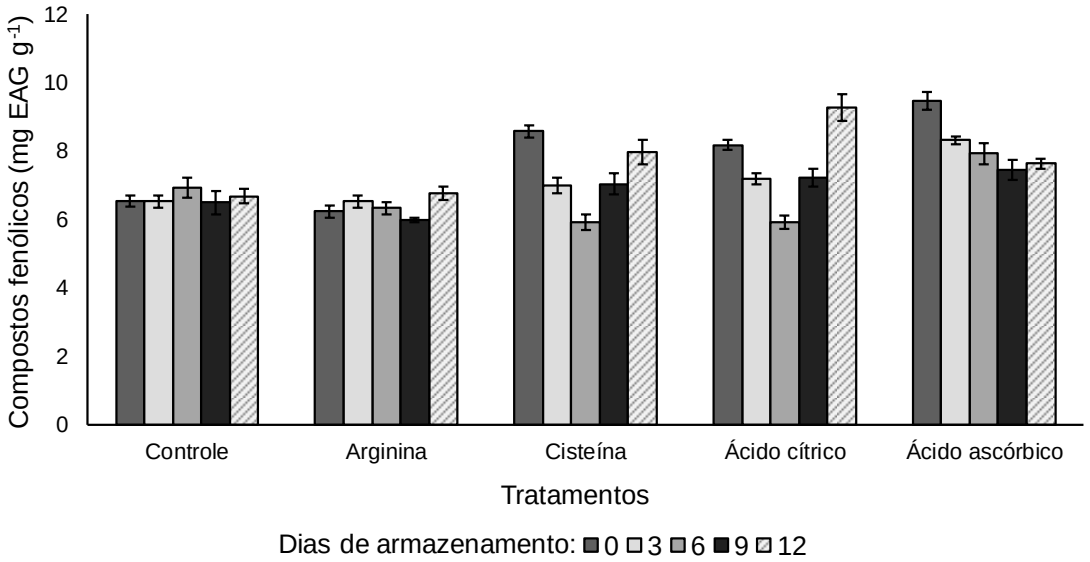

Figura 21. Teor de compostos fenólicos totais em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

3.3.9. Teor de flavonois totais

Os flavonois são compostos que estão relacionados com diversas atividades biológicas, dentre elas a capacidade de sequestrar radicais livres. Neste trabalho, pode-se observar que a aplicação de cisteína promoveu maiores teores de flavonois totais em comparação com os demais aditivos e o controle (Figura 22), o que pode estar relacionado com a maior capacidade antioxidante para esse mesmo aditivo. É possível observar também que os menores teores foram encontrados para o controle, tratamento com arginina e com ácido cítrico. Não houve influência do tempo de armazenamento sobre os teores de flavonois totais.

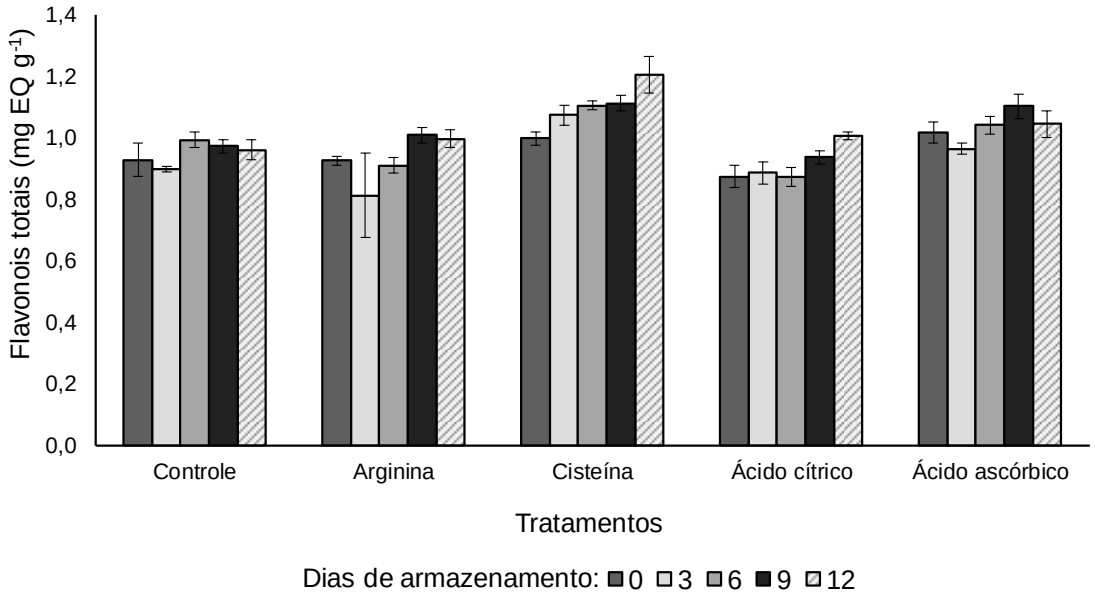

Figura 22. Teor de flavonois totais em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

3.3.10. Atividade da polifenol oxidase (PPO) e da peroxidase (POD)

As enzimas PPO e POD são indicadoras do estresse gerado nos produtos vegetais. O aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de compostos do metabolismo secundário estimulam o aumento da atividade dessas enzimas de modo a reestabelecer o equilíbrio e proteger as estruturas celulares.

A aplicação de cisteína não foi eficaz na redução da atividade da PPO, uma vez que apresentou alta atividade dessa enzima durante todos os dias de armazenamento em

comparação com os demais tratamentos (Figura 23A). Em contrapartida, a aplicação de arginina promoveu redução na atividade de PPO a partir do sexto dia de armazenamento. A redução na atividade desta enzima ocorreu somente para este tratamento. Todos os demais apresentaram aumento na atividade enzimática, com valores maiores no último dia avaliado. Os ácidos orgânicos como aditivos auxiliaram na manutenção da atividade da PPO estável por seis dias, seguido de aumento a partir do nono dia.

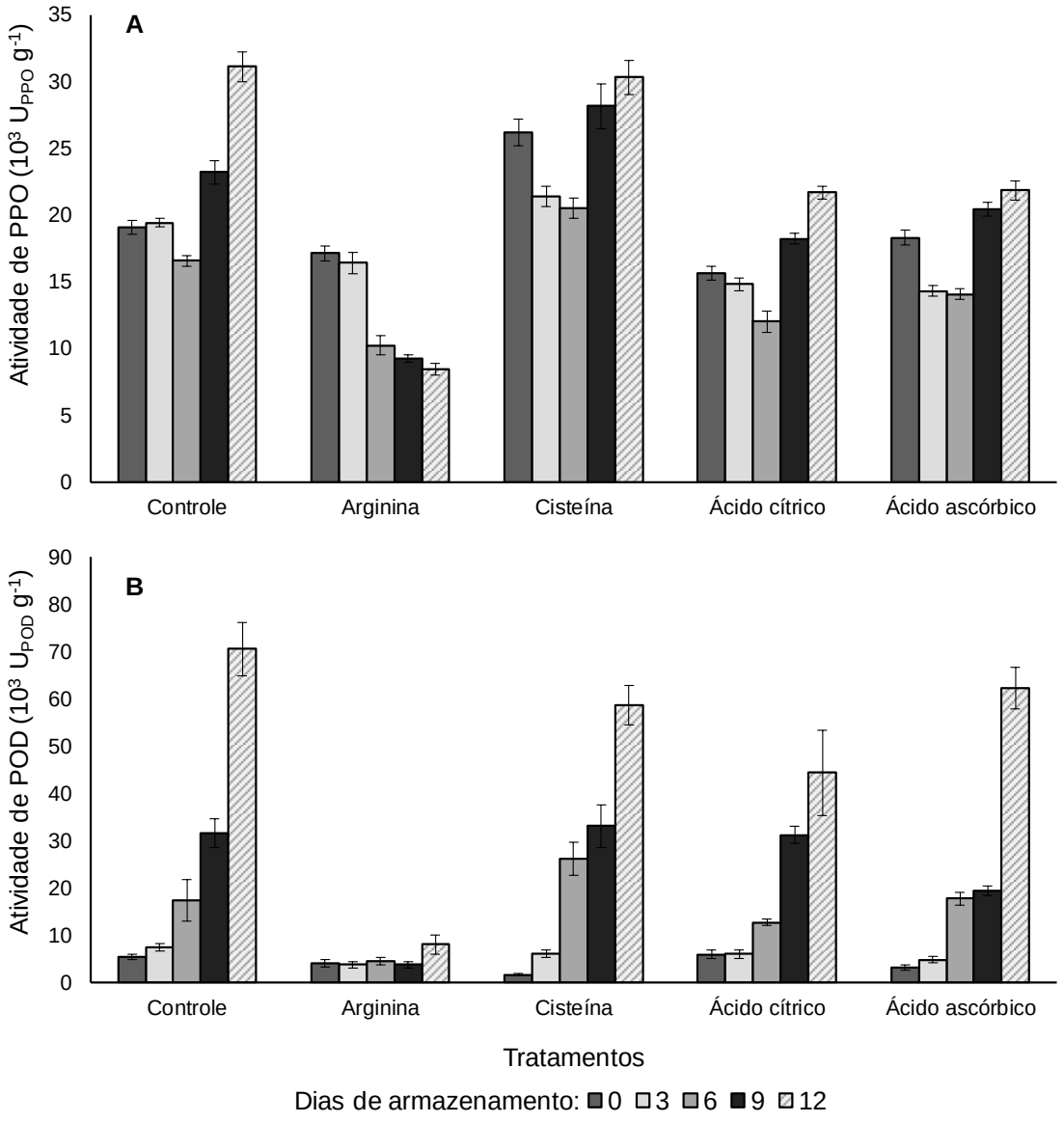

Figura 23. Atividade de polifenol oxidase - PPO (A) e peroxidase - POD (B) em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas a 5±1°C e 90±5% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Em relação à POD, observou-se menor atividade enzimática para as beterrabas tratadas com cisteína em relação ao controle no primeiro dia, porém a partir do terceiro dia

somente o tratamento com arginina diferiu dos demais tratamentos (Figura 23B). A atividade de POD para as beterrabas tratadas com arginina foi estável do início ao fim do armazenamento e com os menores valores em relação aos demais. O controle e tratamentos com ácidos orgânicos apresentaram aumento gradual da atividade enzimática. Já o tratamento com cisteína, apresentou menor atividade de POD no início, mas com aumento exponencial a partir do terceiro dia de armazenamento.

Provavelmente a aplicação de arginina estimulou algum mecanismo de defesa que reduziu, principalmente, a produção de EROs, o que por consequência conteve a atividade dessas enzimas.

3.4. DISCUSSÃO

Os resultados da utilização de diferentes aditivos com distintos mecanismos de ação na conservação e inibição de oxidação enzimática em beterraba minimamente processada podem ser percebidos primeiramente nas análises visuais de esbranquiçamento, brilho e opacidade. Os tratamentos com cisteína e com os ácidos orgânicos foram semelhantes ao controle em relação ao aspecto visual. Os mecanismos de ação desses aditivos, apesar das particularidades, afetam principalmente a formação de *o*-quinonas e de compostos escuros (Richard-Forget *et al.*, 1992; Oms-Oliu *et al.*, 2010). No caso da arginina, o mecanismo de ação é menos focado nos produtos de oxidação enzimática e mais relacionado com a ativação do sistema de defesa do produto com a síntese de NO e de PAs (Morris, 2007).

Os resultados de cor (luminosidade e cromaticidade) confirmam os resultados obtidos com a análise visual e também são coerentes com o IE. Novamente, a arginina demonstrou resultados mais promissores no que diz respeito a conservação do aspecto visual e redução do esbranquiçamento. A cor é o atributo de qualidade mais atrativo para o consumidor e importante para a decisão de compra (Pathare *et al.*, 2013). A alteração de cor provocada pelo estresse oxidativo foi observada em alface minimamente processada tratada com ácido cítrico, ácido ascórbico e cisteína (Ali *et al.*, 2015) e em repolho minimamente processado tratado com ácido cítrico e ácido ascórbico (Manolopoulou e Varzakas, 2011), sendo que o ácido cítrico apresentou, em ambos os casos, a menor alteração de cor durante o armazenamento. No caso da beterraba, o ácido ascórbico foi o segundo melhor tratamento em relação à alteração de cor durante o armazenamento.

Alguns autores atribuem a eficácia dos aditivos à sua concentração ou à fisiologia do produto vegetal (Ali *et al*., 2015; Ali *et al.*, 2016). No caso da beterraba, as betalaínas mascaram a formação de compostos escuros. Por isso, os aditivos antiescurecimento podem ter um efeito que não é observado pelos consumidores. Outros autores já avaliaram que o ácido cítrico em beterrabas reduziu a taxa respiratória e manteve os teores dos pigmentos durante o armazenamento, mas sem avaliar o esbranquiçamento do produto (Kluge *et al.*, 2008).

O esbranquiçamento é resultado da desidratação e colapso das células superficiais do produto cortado, podendo ser revertido, dependendo do estágio de desidratação do produto (Simões *et al.*, 2010). Com isso, pode-se inferir que a ação da arginina no combate ao esbranquiçamento teria ocorrido a partir dos compostos anti-estresse e anti-senescência, como poliaminas e NO, que atuam como sinalizadores celulares e reduzem a síntese de etileno (Manjunatha, *et al*., 2010).

Em relação à taxa respiratória, o tratamento com cisteína foi semelhante ao controle. Isso pode ser explicado pela ação específica da cisteína no processo de inibição da formação de compostos escuros, não afetando diretamente o metabolismo primário do produto. As beterrabas tratadas com os ácidos cítrico e ascórbico reduziram a taxa respiratória no início do armazenamento, provavelmente devido à alteração do pH e à ação antioxidante, que inibiram o estresse no início do armazenamento. Kluge *et al.* (2008) mostraram que a taxa respiratória de beterrabas minimamente processadas tratadas com ácido cítrico ficou estável durante o período de 10 dias. Kato-Noguchi e Watada (1997) observaram redução na taxa respiratória de cenouras minimamente processadas tratadas com ácido cítrico, provavelmente devido a sua atuação como inibidor da atividade da fosfofrutoquinase ATP-dependente, que controla a glicólise, primeira etapa da respiração. O efeito dos ácidos orgânicos, como agente redutores, é temporário, ou seja, a proteção conferida por eles é efetiva até que eles sejam totalmente consumidos pela reação de oxidação (Manolopoulou e Varzakas, 2011).

No caso da arginina, a redução da taxa respiratória pode ser associada a outro mecanismo de ação. A biossíntese de L-citrulina a partir de arginina libera NO que é uma molécula sinalizadora de estresse (Domingos *et al.*, 2015). Um dos principais efeitos do NO sobre os produtos vegetais é a redução da taxa respiratória, uma vez que o NO afeta a função da mitocôndria nas células vegetais e reduz a respiração por meio da inibição da via do citocromo (Wills, 2015). Os resultados deste trabalho confirmam esse efeito. Outros autores também reportaram a redução da taxa respiratória em produtos tratados com doadores de NO,

conforme verificado em manga (Zaharah e Singh, 2011), morango (Zhu e Zhou, 2007) e ameixa (Singh *et al.*, 2009).

O NO também possui efeito sobre o teor de sólidos solúveis, o que pode explicar a estabilidade nos sólidos solúveis para as beterrabas tratadas com arginina. A aplicação de doadores de NO em lichia (Barman *et al.*, 2014) e em manga (Ren *et al.*, 2017) manteve o teor de sólidos solúveis estável e próximo do controle. Os tratamentos com ácidos orgânicos e com cisteína apresentaram menor teor de sólidos solúveis que os demais provavelmente devido à taxa respiratória mais elevada a partir do 6º dia, o que coincide com a queda de sólidos solúveis no 9º dia. As reservas energéticas são consumidas pelo metabolismo primário (respiração), resultando em redução de sólidos solúveis (Brecht *et al.*, 2007).

Os teores de açúcares também se relacionam com a taxa respiratória, uma vez que os açúcares redutores (glicose e frutose) são consumidos pela respiração para produção de energia (Kenter e Hoffmann, 2009). No entanto, a conversão de açúcares complexos em açúcares simples é mediada por invertases, formando mais açúcares redutores. Neste trabalho, o aumento da taxa respiratória no sexto dia de armazenamento para a maioria dos tratamentos pode estar relacionado com o pico na conversão de açúcares observado no nono dia. Para o tratamento com arginina, os teores de açúcares redutores foi mais baixo em relação aos demais tratamentos, o que condiz com a sua baixa taxa respiratória.

Com o objetivo de avaliar o estresse gerado no produto minimamente processado de forma indireta, compostos importantes do metabolismo secundário das beterrabas foram avaliados durante o armazenamento. A beterraba é fonte importante de diversos compostos bioativos, como betalaínas, compostos fenólicos e flavonóis, que são responsáveis pela sua capacidade antioxidante (Georgiev *et al.*, 2010).

Neste trabalho, não foram observadas variações significativas no teor de betalaínas durante o armazenamento. Picoli *et al.* (2010) também observaram que o teor de betalaínas foi pouco afetado no armazenamento de beterrabas minimamente processadas tratadas com biorreguladores. Algumas características dos aditivos utilizados, como baixo pH nas soluções com ácidos orgânicos pode ter provocado instabilidade e degradação das betalaínas, principalmente para o tratamento com ácido cítrico, que apresentou menores teores de betalaínas desde o início do armazenamento. A estabilidade das betalaínas é influenciada por diversos fatores, como pH, atividade de água, concentração de oxigênio, presença de luz e aplicação de estabilizantes, por exemplo (Herback *et al.*, 2006).

Apesar de não haver alterações significativas em relação aos teores de betalaínas, a capacidade antioxidante apresentou redução no sexto dia para as beterrabas tratadas com

cisteína, ácido cítrico e ácido ascórbico, enquanto que a redução para o controle e tratamento com arginina foi observada a partir do nono dia. Os aditivos podem ter contribuído para o aumento da capacidade antioxidante inicial de alguns tratamentos, mas com o estresse oxidativo dos produtos durante o armazenamento, a capacidade de reagir com os radicais livres foi reduzida. Dessa forma, o efeito temporário dos aditivos pode ter alterado a capacidade antioxidante inicial nas beterrabas. A beterraba possui alta capacidade antioxidante em decorrência do elevado teor de compostos bioativos, principalmente as betalaínas, quando comparada a outros vegetais (Kähkönen *et al.*, 1999).

As beterrabas tratadas com arginina apresentaram teores de compostos fenólicos próximos ao do controle, o que provavelmente está relacionado com a menor atividade da PAL quando se aplica óxido nítrico ou derivados (Gong *et al.*, 2018), ainda que haja autores (Wang *et al*., 2017) que afirmem que uma redução da PAL não acarreta na diminuição de compostos fenólicos. A redução de compostos fenólicos observada para os tratamentos com cisteína e ácido cítrico no sexto dia de armazenamento pode ser oriunda da oxidação por espécies reativas de oxigênio (EROs) ou pela ação da PPO. Os compostos fenólicos e flavonoides são produtos do metabolismo secundário e funcionam como mecanismos de defesa em resposta a algum estresse oxidativo (Silva *et al.*, 2010). Assim, o aumento nos teores observado posteriormente para esses tratamentos pode ter ocorrido como uma forma de reestabelecer os compostos de defesa pelo provável aumento na atividade da PAL. Picoli *et al.* (2010) relataram que não houve alteração no teor de compostos fenólicos durante o armazenamento de beterrabas minimamente processadas tratadas com biorreguladores.

Os aditivos utilizados nas beterrabas também podem ter interferido na análise espectrofotométrica de compostos fenólicos, uma vez que substâncias não fenólicas podem estar presentes no extrato e causar interferência na análise pelo método Folin-Ciocauteau. Prior *et al.* (2005) apontaram algumas substâncias que causam interferência na análise de compostos fenólicos, entre elas açúcares, aminas aromáticas, dióxido de enxofre, ácido ascórbico e outros enediols e redutores, ácidos orgânicos e Fe(II). Provavelmente a alteração nos teores de compostos fenólicos das beterrabas tratadas com ácidos orgânicos e até mesmo com cisteína pode ser oriunda da interferência desses aditivos na análise e não efeito de sua aplicação.

Além da produção de metabólitos secundários como forma de defesa ao estresse oxidativo, algumas enzimas oxidativas, como a PPO e POD, tendem a apresentar maior atividade enzimática. A elevada atividade dessas enzimas afeta a qualidade dos produtos hortícolas, causando alteração de sabor, cor, textura e valor nutricional (Tomás-Barberán e

Espín, 2001). Segundo Pradedova *et al.* (2014), a atividade de enzimas pode ser utilizada para avaliar a intensidade do processo oxidativo nas células. Por essa razão, análises da atividade de PPO e POD foram realizadas neste trabalho.

O estresse promovido pelas etapas do processamento mínimo estimula a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que, em grandes concentrações, possui efeito citotóxico. O combate ao excesso de ROS pode ser realizado pela ativação do metabolismo secundário (com o aumento da atividade da PAL), que estimula a produção de compostos de ação não específicas, como compostos fenólicos, carotenoides e flavonoides e, também pela ativação de enzimas, como a POD, PPO, SOD, CAT, entre outras (Das e Roychoudhury, 2014). Os tratamentos com ácidos orgânicos e cisteína apresentaram baixa influência sobre a atividade da PPO e da POD, apresentando comportamentos semelhantes ao controle. O ácido ascórbico, embora seja um antioxidante inespecífico capaz de sequestrar os radicais livres, possui efeito de aplicação temporário, o que justifica sua baixa influência sobre a atividade enzimática. Por outro lado, a arginina se destacou por inibir a atividade da PPO e da POD. Babalar *et al.* (2018) ao aplicarem arginina em romã, encontraram aumento na atividade de enzimas antioxidantes (SOD, APX e CAT), que causou redução de H_2O_2, minimizando a peroxidação lipídica e o extravasamento de membrana. Ainda, a redução na atividade da PPO proporcionada pelo tratamento com arginina contribuiu para a redução do escurecimento enzimático.

Os produtos formados a partir da aplicação da arginina provavelmente reduziram o acúmulo de radicais livres, estimulando o sistema de defesa, seja ele enzimático (enzimas antioxidantes) ou pela síntese de compostos de defesa. Esse conjunto de estratégias utilizado para combater o estresse oxidativo favoreceu a manutenção da integridade das membranas celulares, e com isso, reduziu o extravasamento do conteúdo celular que gera desidratação e colapso das células, refletindo em maior esbranquiçamento, no caso da beterraba.

Outras análises, como atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX), atividade da PAL, extravasamento de membrana e conteúdo de malondialdeído (MDA) auxiliariam e complementariam as conclusões deste trabalho. Algumas evidências acerca da aplicação de arginina e seus efeitos foram comprovadas, porém estudos ainda precisam ser realizados a fim de esclarecer os mecanismos relacionados com a aplicação de arginina e a integridade das membranas celulares.

3.5. 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: 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 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.

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 >.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, as agroindústrias buscam por aditivos alternativos e seguros que promovem maior vida útil de produtos hortícolas, principalmente os produtos minimamente processados. Nesse contexto, este trabalho é importante uma vez que comprovou a eficácia da arginina na redução de oxidação enzimática, que é um dos principais fatores de depreciação desses produtos.

Este trabalho ainda mostrou que, para beterraba minimamente processada, além da dosagem do aminoácido, é preciso se atentar ao pH da solução do aditivo. A arginina é um aminoácido básico e, por isso, o pH da solução pode causar danos às frutas e hortaliças tratadas, dependendo da sua sensibilidade. O pH é um fator que está relacionado com a estabilidade das betalaínas e, por essa razão, manter a solução de tratamento dentro da faixa de pH adequada é de suma importância. Dessa forma, a dose de 25 mM de arginina promoveu resultados satisfatórios quando teve o pH da solução de tratamento alterada para pH 7,0.

O estudo de comparação entre os aditivos foi interessante, já que foram testados aditivos com propriedades e modo de ação diferentes. Para a beterraba minimamente processada, o tratamento com arginina se mostrou mais eficaz em relação ao controle, aos ácidos orgânicos (cítrico e ascórbico) e também em relação à cisteína. As evidências de que a arginina estimula a síntese de compostos anti-estresse e anti-senescência, como as PAs e NO faz desse aminoácido um aditivo muito interessante e promissor para a indústria de processamento mínimo.

Por se tratar de um assunto recente, muitos estudos ainda precisam ser realizados, principalmente quanto ao modo de ação, para que se comprove as evidências; à viabilidade econômica, para que seja implementado na prática; ao aspecto sensorial geral do produto, para certificar que não haja interferência no sabor, aroma e textura; e também quanto à eficácia, testando doses e os efeitos em diversos produtos. Para futuros trabalhos recomendamos a realização de outras análises para consolidar os conhecimentos acerca do modo de ação da arginina, como por exemplo teor de NO, atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT e APX), atividade da PAL, extravasamento de membrana e conteúdo de malondialdeído (MDA).

APÊNDICE

Tabela 1. Luminosidade, Cromaticidade e Índice de esbranquiçamento (IE) em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos		Dias				
		0	**3**	**6**	**9**	**12**
				Luminosidade		
	pH inalterado	16,3 ABc	18,3 ABc	21,6 ABb	22,7 Ab	25,8 ABa
0,0 mM	**pH 6,0**	17,1 ABc	17,8 ABc	23,1 Ab	22,6 Ab	27,0 Aa
	pH 7,0	16,2 ABb	17,4 ABb	21,8 ABa	21,2 Aa	22,8 BCDa
	pH inalterado	17,3 Ac	18,1 ABbc	20,9 ABa	20,4 Aab	21,8 DEa
10,0 mM	**pH 6,0**	17,0 ABc	17,5 ABbc	19,9 Bab	19,9 Aab	20,9 DEa
	pH 7,0	17,4 Ac	18,5 ABc	21,3 ABb	21,7 Ab	25,0 ABCa
	pH inalterado	14,0 Bc	17,2 ABb	20,0 ABa	22,2 Aa	21,4 DEa
25,0 mM	**pH 6,0**	16,0 ABb	18,6 ABab	19,7 Ba	21,1 Aa	20,1 DEa
	pH 7,0	16,8 ABbc	16,6 Bc	19,4 Bab	19,6 Aa	19,2 Eabc
	pH inalterado	16,4 ABc	18,1 ABbc	20,4 ABab	20,3 Aab	22,3 CDEa
50,0 mM	**pH 6,0**	17,0 ABb	20,3 Aa	21,2 ABa	21,7 Aa	22,6 BCDa
	pH 7,0	17,4 Ab	18,4 ABb	21,7 ABa	21,6 Aa	23,2 BCDa
				Cromaticidade		
	pH inalterado	31,9 Aa	28,3 BCb	24,1 Cc	23,7 BCb	22,4 Dc
0,0 mM	**pH 6,0**	31,7 Aa	27,2 Cb	26,4 BCb	22,7 Cc	22,4 Dc
	pH 7,0	30,7 ABa	29,6 ABCab	27,2 ABCb	23,2 Cc	23,9 CDc
	pH inalterado	31,3 ABa	30,4 ABCa	28,9 ABa	25,9 ABCb	24,3 BCDc
10,0 mM	**pH 6,0**	31,7 Aa	28,7 BCb	27,2 ABCbc	25,9 ABCc	25,1 ABCDc
	pH 7,0	32,4 Aa	30,5 ABCab	27,9 ABbc	25,9 ABCc	25,2 ABCDc
	pH inalterado	25,0 Cc	29,6 ABCa	28,4 ABab	27,8 Aabc	26,2 ABCbc
25,0 mM	**pH 6,0**	31,7 Aa	31,3 ABa	29,3 ABab	28,5 Ab	27,2 ABCb
	pH 7,0	32,2 Aa	28,9 BCb	28,9 ABb	26,7 ABb	27,2 ABCb
	pH inalterado	28,2 BCab	30,4 ABCa	30,1 Aa	27,2 Ab	26,6 ABb
50,0 mM	**pH 6,0**	31,6 ABa	32,7 Aa	29,9 Aab	27,9 Ab	27,6 ABb
	pH 7,0	32,6 Aa	30,6 ABCab	29,4 ABb	28,9 Ab	28,3 Ab
				Índice de esbranquiçamento (IE)		
	pH inalterado	10,4 Ad	13,6 Ac	18,0 ABb	19,2 Ab	22,5 ABa
0,0 mM	**pH 6,0**	11,2 Ad	13,4 Ac	18,7 Ab	19,3 Ab	23,6 Aa
	pH 7,0	10,7 Ab	12,3 Ab	17,2 ABCa	17,9 ABa	19,2 CDa
	pH inalterado	11,5 Ac	12,6 Ac	15,8 BCDb	16,2 Bab	18,2 DEa
10,0 mM	**pH 6,0**	11,1 Ab	12,6 Ab	15,4 BCDa	15,8 Ba	17,0 DEFa
	pH 7,0	11,3 Ac	13,0 Ac	16,5 ABCDb	17,5 ABb	20,9 BCa
	pH inalterado	10,4 Ac	12,1 Ac	15,1 CDb	17,4 ABa	17,1 DEFab
25,0 mM	**pH 6,0**	10,2 Ac	12,8 Ab	14,5 Dab	16,1 Ba	15,6 EFa
	pH 7,0	10,8 Ab	11,7 Ab	14,3 Da	15,3 Ba	14,7 Fa
	pH inalterado	11,8 Ac	12,6 Ac	14,9 CDb	15,7 Bab	17,8 DEa
50,0 mM	**pH 6,0**	11,2 Ac	13,8 Ab	15,7 BCDab	16,8 ABa	17,8 DEa
	pH 7,0	11,2 Ab	12,8 Ab	16,3 ABCDa	16,4 Ba	18,1 DEa

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%.

Tabela 2. Taxa respiratória em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos		Dias				
		0	3	6	9	12
		Taxa respiratória (mL CO_2 kg^{-1} h^{-1})				
0,0 mM	pH inalterado	29,9 Ad	84,5 Aa	53,8 Ac	63,3 ABb	54,1 Cc
	pH 6,0	32,9 Ad	70,6 Ba	41,0 BCc	55,1 BCDb	41,9 Dc
	pH 7,0	27,4 Ac	61,4 Ba	44,0 Bb	63,5 ABa	51,0 CDb
10,0 mM	pH inalterado	24,3 ABc	32,8 CDEb	32,0 CDEFbc	46,6 DEFa	49,6 CDa
	pH 6,0	16,5 BCDc	36,2 CDb	37,1 BCDb	51,1 CDEa	50,0 CDa
	pH 7,0	14,2 CDc	39,6 Ca	30,8 DEFb	41,9 EFa	44,6 Da
25,0 mM	pH inalterado	7,1 DEe	23,8 EFd	32,7 CDEFc	43,1 EFb	55,8 Ca
	pH 6,0	15,7 BCDd	23,5 EFcd	26,1 EFc	39,0 Fb	55,9 Ca
	pH 7,0	17,0 BCc	31,5 CDEFb	29,9 DEFb	49,1 CDEFa	49,5 CDa
50,0 mM	pH inalterado	3,6 Ee	22,4 Fd	35,5 BCDEc	71,9 Ab	112,5 Aa
	pH 6,0	11,1 CDEd	26,7 DEFc	29,0 DEFc	59,2 BCb	74,9 Ba
	pH 7,0	15,6 BCDd	25,3 EFc	25,1 Fc	47,4 DEFb	72,3 Ba

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%.

Tabela 3. Sólidos solúveis, açúcares redutores (AR) e açúcares totais (AT) em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos		Dias				
		0	3	6	9	12
				Sólidos Solúveis (%)		
	pH inalterado	8,82 ABab	8,83 ABab	8,97 ABa	8,58 Bab	8,48 BCb
0,0 mM	**pH 6,0**	8,93 ABa	8,63 BCDab	8,40 CDEb	8,28 BCb	8,63 Bab
	pH 7,0	8,17 DEa	8,26 BCDEa	7,97 Ea	7,95 Ca	7,83 Da
	pH inalterado	8,75 BCa	8,78 Ba	8,55 BCa	8,34 BCa	8,48 BCa
10,0 mM	**pH 6,0**	8,63 BCDa	8,55 BCDa	8,47 CDa	8,44 BCa	8,47 BCa
	pH 7,0	8,83 ABa	8,67 BCa	8,53 BCa	8,02 Cb	8,40 BCab
	pH inalterado	8,27 DEa	7,78 Eb	8,18 CDEab	8,42 BCa	8,32 BCa
25,0 mM	**pH 6,0**	8,30 CDEa	8,23 CDEa	8,27 CDEa	8,13 BCa	8,27 BCDa
	pH 7,0	8,13 Ea	8,12 DEa	8,05 DEa	8,17 BCa	8,08 CDa
	pH inalterado	8,80 ABa	8,62 BCDab	8,37 CDEabc	8,10 Cc	8,18 BCDbc
50,0 mM	**pH 6,0**	8,47 BCDEa	8,25 CDEa	8,36 CDEa	8,25 BCa	8,50 BCa
	pH 7,0	9,25 Aa	9,27 Aa	9,05 Aa	9,07 Aa	9,23 Aa
				Açúcares redutores (%)		
	pH inalterado	7,9 Ab	6,9 Ab	5,0 Bc	8,0 Ab	13,8 Aa
0,0 mM	**pH 6,0**	8,4 Ab	6,9 Ab	7,0 ABb	8,0 Ab	12,2 ABa
	pH 7,0	6,6 Ab	6,5 Ab	6,8 ABb	7,4 Ab	13,9 Aa
	pH inalterado	6,8 Ab	6,9 Ab	6,6 ABb	7,8 Ab	9,9 BCa
10,0 mM	**pH 6,0**	6,7 Aa	6,9 Aa	8,3 Aa	7,3 Aa	8,5 CDa
	pH 7,0	6,9 Ab	7,5 Aab	8,5 Aab	6,9 Ab	8,9 CDa
	pH inalterado	7,3 Aa	6,0 Aa	7,7 Aa	7,8 Aa	7,5 Da
25,0 mM	**pH 6,0**	7,5 Aa	7,7 Aa	7,2 ABa	7,8 Aa	8,5 CDa
	pH 7,0	6,2 Ab	7,5 Ab	6,5 ABb	7,9 Ab	10,6 BCa
	pH inalterado	7,0 Ab	7,6 Ab	7,5 Ab	7,7 Ab	11,2 Ba
50,0 mM	**pH 6,0**	6,5 Aa	6,7 Aa	7,5 Aa	7,7 Aa	6,7 Da
	pH 7,0	6,9 Ab	6,6 Ab	6,7 ABb	7,7 Ab	11,8 ABa
				Açúcares totais (%)		
	pH inalterado	44,9 Aa	44,8 ABa	38,1 Aab	34,5 Bb	34,3 Ab
0,0 mM	**pH 6,0**	44,8 Aa	43,6 ABab	44,6 Aa	34,4 Bb	36,0 Aab
	pH 7,0	43,8 Aa	46,1 ABa	40,6 Aa	44,8 ABa	28,1 Ab
	pH inalterado	46,3 Aab	43,6 ABabc	37,2 Abc	48,7 Aa	34,4 Ac
10,0 mM	**pH 6,0**	47,6 Aa	49,0 Aa	37,4 Ab	42,6 ABab	33,7 Ab
	pH 7,0	44,7 Aa	41,3 ABa	39,9 Aab	38,5 ABab	30,5 Ab
	pH inalterado	41,7 Aa	40,6 ABa	40,7 Aa	38,3 ABa	35,8 Aa
25,0 mM	**pH 6,0**	48,9 Aa	40,8 ABab	41,4 Aab	39,9 ABab	34,1 Ab
	pH 7,0	45,0 Aa	41,2 ABab	34,1 Ab	38,6 ABab	33,1 Ab
	pH inalterado	48,7 Aa	36,5 Bbc	35,3 Abc	40,4 ABab	30,2 Ac
50,0 mM	**pH 6,0**	42,0 Aa	37,6 ABa	41,2 Aa	37,2 ABa	26,9 Ab
	pH 7,0	41,8 Aa	42,3 ABa	37,7 Aa	39,8 ABa	35,6 Aa

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%.

Tabela 4. Teor de betalaínas (betacianias e betaxantinas) e capacidade antioxidante (ABTS) em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos		Dias				
		0	**3**	**6**	**9**	**12**
				Betacianina (mg g^{-1})		
0,0 mM		5,06 Aa	4,68 Ab	5,05 Aa	5,06 Aa	4,22 Ac
10,0 mM		5,25 Aa	4,65 Ab	4,86 Ab	4,90 Ab	4,15 Ac
25,0 mM		5,06 Aa	4,80 Aa	4,83 Aa	4,79 ABa	4,14 Ab
50,0 mM		4,72 Ba	4,59 Aa	4,77 Aa	4,51 Ba	3,75 Bb
				Betaxantina (mg g^{-1})		
0,0 mM	**pH inalterado**	3,24 ABCa	3,20 ABa	3,35 Aa	3,24 Aa	2,67 ABCb
	pH 6,0	3,14 BCa	2,85 Bab	3,14 ABa	3,01 Aa	2,59 ABCb
	pH 7,0	3,23 ABCa	3,07 ABa	3,18 ABa	3,21 Aa	2,53 BCb
10,0 mM	**pH inalterado**	3,11 Ca	3,01 ABa	3,20 ABa	3,05 Aa	2,55 BCb
	pH 6,0	3,56 ABa	3,14 ABb	3,10 ABb	3,17 Ab	2,80 ABb
	pH 7,0	3,26 ABCa	2,96 ABab	2,92 ABab	2,94 Aab	2,61 ABCb
25,0 mM	**pH inalterado**	2,98 Ca	3,03 ABa	3,02 ABa	2,99 Aa	2,87 ABa
	pH 6,0	3,15 BCa	3,12 ABa	3,14 ABa	3,06 Aa	2,67 ABCb
	pH 7,0	3,61 Aa	3,00 ABb	2,90 Bb	2,98 Ab	2,44 BCc
50,0 mM	**pH inalterado**	3,17 BCa	3,35 Aa	3,34 ABa	3,20 Aa	3,02 Aa
	pH 6,0	3,22 ABCa	3,15 ABa	2,92 ABa	2,86 Aab	2,51 BCb
	pH 7,0	2,87 Ca	2,87 Ba	3,03 ABa	2,84 Aa	2,29 Cb
				ABTS (µM TEAC g^{-1})		
0,0 mM		40,9 ABb	42,9 Ab	44,9 Aab	48,0 Aa	34,3 Bc
10,0 mM		44,8 Aab	40,0 Ac	41,3 Abc	47,4 Aa	35,1 ABd
25,0 mM		42,3 Aa	40,7 Aa	42,8 Aa	41,2 Ba	38,7 Aa
50,0 mM		38,1 Bab	39,3 Aab	41,8 Aa	41,7 Ba	35,6 ABb

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%.

Tabela 5. Compostos fenólicos totais, flavonois totais e atividade da polifenol oxidase (PPO) e da peroxidase (POD) em beterrabas minimamente processadas tratadas com combinação de diferentes doses de arginina e faixas de pH e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos		Dias 0	3	6	9	12
		Compostos fenólicos totais (mg EAG g^{-1})				
0,0 mM	**pH inalterado**	11,40 ABa	9,88 ABCDb	9,81 BCDb	11,15 Aa	8,86 BCDb
	pH 6,0	12,05 Aa	9,72 ABCDb	8,48 DEc	10,02 ABCb	9,77 ABCb
	pH 7,0	10,25 BCDa	10,29 ABa	8,55 DEb	11,19 Aa	10,25 ABa
10,0 mM	**pH inalterado**	9,78 Da	9,83 ABCDa	8,35 Eb	10,51 ABa	8,31 Db
	pH 6,0	11,22 ABCa	10,63 Aa	11,37 Aa	10,29 ABCa	8,35 Db
	pH 7,0	10,30 BCDab	10,27 ABb	11,41 Aa	10,32 ABCab	9,03 ABCDc
25,0 mM	**pH inalterado**	9,27 DEa	10,24 ABa	10,04 ABCa	9,89 ABCa	10,22 ABa
	pH 6,0	9,63 Dbc	10,02 ABCab	10,93 ABa	10,21 ABCab	8,89 BCDc
	pH 7,0	10,49 BCDa	9,10 BCDEb	9,46 CDEab	10,07 ABCab	9,24 ABCDb
50,0 mM	**pH inalterado**	8,21 Eb	8,82 CDEb	9,32 CDEab	9,31 BCab	10,41 Aa
	pH 6,0	9,95 CDa	8,62 DEbc	8,85 CDEabc	9,58 BCab	7,87 Dc
	pH 7,0	9,42 DEa	8,26 Eb	9,14 CDEab	8,98 Cab	8,49 CDab
		Flavonois totais (mg EQ g^{-1})				
0,0 mM	**pH inalterado**	1,16 ABab	1,22 Aa	1,21 ABab	1,07 Ab	1,20 ABCab
	pH 6,0	1,03 Ba	1,08 Aa	1,14 BCDa	1,00 Aa	1,15 BCa
	pH 7,0	1,14 ABa	1,13 Aa	1,19 ABCa	1,12 Aa	1,24 ABa
10,0 mM	**pH inalterado**	1,04 Bab	1,15 Aa	1,15 BCDa	0,98 Ab	1,03 Cab
	pH 6,0	1,13 ABa	1,20 Aa	1,07 BCDa	1,13 Aa	1,21 ABCa
	pH 7,0	1,11 ABab	1,13 Aab	1,01 Db	1,03 Ab	1,18 ABCa
25,0 mM	**pH inalterado**	1,11 ABab	1,24 Aa	1,04 BCDb	1,10 Aab	1,20 ABa
	pH 6,0	1,06 ABb	1,24 Aa	1,02 CDb	1,02 Ab	1,35 Aa
	pH 7,0	1,24 Aa	1,19 Aa	1,15 BCDa	1,10 Aa	1,17 ABCa
50,0 mM	**pH inalterado**	1,17 ABbc	1,23 Aabc	1,34 Aa	1,11 Ac	1,27 ABab
	pH 6,0	1,13 ABa	1,13 Aa	1,09 BCDa	1,14 Aa	1,09 BCa
	pH 7,0	1,08 ABab	1,12 Aa	1,08 BCDab	0,96 Ab	1,13 BCa
		Atividade da polifenol oxidase - PPO (10^3 U_{PPO} g^{-1})				
0,0 mM	**pH inalterado**	18,6 Abc	14,6 Ac	23,3 Ab	44,4 Aa	39,8 Aa
	pH 6,0	16,6 ABc	13,8 ABc	25,9 Ab	43,7 Aa	39,3 Aa
	pH 7,0	15,2 ABbc	11,8 ABCc	20,0 ABb	36,6 ABa	33,9 Aa
10,0 mM	**pH inalterado**	14,9 ABCa	13,1 ABab	9,8 CDbc	15,6 Ca	9,4 BCc
	pH 6,0	16,3 ABa	11,7 ABCb	12,9 Cab	13,9 Cab	10,1 BCb
	pH 7,0	17,0 ABb	11,4 ABCc	12,4 CDc	25,3 Ba	11,0 Bc
25,0 mM	**pH inalterado**	11,9 BCa	11,2 ABCa	8,0 Db	15,2 Ca	7,3 CDb
	pH 6,0	11,3 BCa	11,8 ABCa	12,9 Ca	13,2 CDa	5,1 DEb
	pH 7,0	12,8 ABCb	12,2 ABb	24,5 Aa	14,5 Cb	4,9 DEc
50,0 mM	**pH inalterado**	12,5 ABCab	9,5 BCb	13,8 BCa	11,1 CDab	4,5 EFc
	pH 6,0	14,5 ABCa	9,8 BCb	12,0 CDab	12,8 CDab	3,2 Fc
	pH 7,0	10,1 Cab	7,9 Cb	11,9 CDa	9,1 Dab	3,6 EFc
		Atividade da peroxidase - POD (10^3 U_{POD} g^{-1})				
0,0 mM		6,7 Ad	19,6 Ac	56,0 Ab	107,7 Aa	168,3 Aa
10,0 mM		5,2 Ac	9,9 Bb	16,0 Bab	19,0 Ba	23,1 Ba
25,0 mM		5,8 Ab	10,3 Bab	13,5 Ba	13,8 BCa	13,9 BCa
50,0 mM		6,4 Abc	6,1 Cc	6,1 Cc	10,0 Cab	13,4 Ca

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%. Dados transformados: PPO: log(y); POD: log(y)

Tabela 6. Índice de esbranquiçamento (IE), Luminosidade e Cromaticidade em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos	Dias				
	0	3	6	9	12
	Índice de Esbranquiçamento (IE)				
Controle	11,5 Ad	14,4 Ad	20,1 Ac	24,2 Ab	27,3 Aa
Arginina	11,3 Ac	13,6 Abc	15,1 Bab	16,4 Cab	17,9 Ca
Cisteína	10,6 Ad	12,4 Ad	17,3 ABc	22,0 ABb	25,1 ABa
Ácido Cítrico	12,5 Ad	13,5 Ad	18,1 Ac	21,3 ABb	27,8 Aa
Ácido Ascórbico	11,4 Ac	13,6 Ac	18,6 Ab	20,1 Bb	23,2 Ba
	Luminosidade				
Controle	17,6 Ac	20,1 Ac	24,4 Ab	27,5 Aab	30,7 Aa
Arginina	17,5 Ac	19,6 Abc	20,3 Babc	21,9 Cab	23,1 Ca
Cisteína	17,3 Ac	18,8 Abc	21,5 ABb	26,3 ABa	28,2 ABa
Ácido Cítrico	19,6 Ac	19,7 Ac	22,7 ABbc	24,3 ABCb	30,2 ABa
Ácido Ascórbico	17,9 Ab	19,2 Ab	24,1 Aa	24,1 BCa	27,2 Ba
	Cromaticidade				
Controle	32,3 Aa	30,8 Aa	26,0 Bb	22,3 CDc	21,9 BCc
Arginina	32,5 Aa	31,6 Aab	29,2 Abc	29,8 Aabc	28,5 Ac
Cisteína	33,8 Aa	32,9 Aa	26,1 Bb	25,6 Bb	21,3 Cc
Ácido Cítrico	34,6 Aa	32,0 Aa	27,1 ABb	21,4 Dc	18,4 Dd
Ácido Ascórbico	33,3 Aa	30,6 Aab	29,3 Ab	25,0 BCc	24,4 Bc

Controle – água destilada; Arginina 25 mM pH 7,0; Cisteína 8 mM; Ácido cítrico 2000 mg L^{-1}; e Ácido ascórbico 2000 mg L^{-1}. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%.

Tabela 7. Taxa respiratória e teor de açúcares redutores em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos	Dias				
	0	**3**	**6**	**9**	**12**
	Taxa respiratória (mL CO_2 kg^{-1} h^{-1})				
Controle	28,4 Ac	49,2 Ab	101,1 Aa	57,8 ABb	48,2 Bb
Arginina	24,0 Ab	29,3 Bb	18,0 Cc	57,0 Ba	66,5 Aa
Cisteína	23,7 Ad	46,8 Ac	99,5 Aa	70,8 Ab	67,2 Ab
Ácido Cítrico	29,7 Ac	26,7 Bc	72,1 Ba	66,6 ABab	55,7 ABb
Ácido Ascórbico	23,8 Ad	33,2 Bc	89,4 Aa	54,4 Bb	45,3 Bb
	Açúcar redutor (%)				
Controle	6,9 Ac	5,8 Ac	7,7 Bc	9,1 ABb	10,8 ABa
Arginina	7,1 Abc	6,6 Ac	6,5 Cc	8,1 BCab	9,2 Ca
Cisteína	7,1 Ac	6,5 Ac	7,2 BCc	9,9 Ab	11,7 Aa
Ácido Cítrico	6,9 Ac	6,8 Ac	7,3 BCc	9,6 Ab	11,0 Aa
Ácido Ascórbico	7,0 Ab	7,0 Ab	8,6 Aa	8,4 Cb	9,8 BCa

Controle – água destilada; Arginina 25 mM pH 7,0; Cisteína 8 mM; Ácido cítrico 2000 mg L^{-1}; e Ácido ascórbico 2000 mg L^{-1}. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%. Dados transformados: Taxa respiratória: $x^{0,25}$.

Tabela 8. Teor de betacianina, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante (ABTS) em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos	Dias				
	0	**3**	**6**	**9**	**12**
	Betacianina (mg g^{-1})				
Controle	2,9 BCa	2,9 Aa	3,1 ABCa	3,1 ABa	3,2 Aa
Arginina	3,3 ABa	3,0 Aa	3,2 ABa	2,9 BCa	2,8 ABa
Cisteína	3,5 Aa	3,1 Aab	3,5 Aa	3,4 Aa	3,0 Ab
Ácido Cítrico	2,6 Ca	2,8 Aa	2,7 Ca	2,5 Ca	2,5 Ba
Ácido Ascórbico	3,2 ABa	3,0 Aa	3,0 BCa	3,0 ABa	2,8 ABa
	Compostos fenólicos (mg EAG g^{-1})				
Controle	6,5 Ca	6,5 Ba	6,9 ABa	6,5 ABa	6,7 Ca
Arginina	6,2 Ca	6,5 Ba	6,3 Ba	6,0 Ba	6,8 Ca
Cisteína	8,6 ABa	7,0 Bbc	5,9 Bc	7,0 ABb	8,0 Bab
Ácido Cítrico	8,2 Bb	7,2 Bb	5,9 Bc	7,2 Ab	9,3 Aa
Ácido Ascórbico	9,5 Aa	8,3 Ab	7,9 Ab	7,5 Ab	7,6 BCb
	Capacidade antioxidante (µM TEAC g^{-1})				
Controle	27,7 Ca	36,7 ABa	33,6 Aa	17,0 Bb	31,2 Aa
Arginina	35,0 BCa	30,5 Ba	35,7 Aa	20,2 Bb	19,3 Bb
Cisteína	45,4 Aa	44,6 Aa	32,5 ABb	32,6 Ab	33,1 Ab
Ácido Cítrico	38,1 ABa	35,1 ABa	22,5 Cb	30,9 Aab	32,8 Aa
Ácido Ascórbico	36,4 ABCa	36,2 ABa	23,0 BCb	35,1 Aa	31,1 Aab

Controle – água destilada; Arginina 25 mM pH 7,0; Cisteína 8 mM; Ácido cítrico 2000 mg L^{-1}; e Ácido ascórbico 2000 mg L^{-1}. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%.

Tabela 9. Atividade das enzimas polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD) em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos	Dias				
	0	3	6	9	12
	PPO (10^3 U_{PPO} g^{-1})				
Controle	19,1 Bbc	19,4 ABbc	16,6 ABc	23,2 ABb	31,1 Aa
Arginina	17,1 Ba	16,4 ABCa	10,2 Cb	9,2 Cb	8,4 Cb
Cisteína	26,2 Aab	21,4 Abc	20,5 Ac	28,2 Aa	30,3 Aa
Ácido Cítrico	15,6 Bbc	14,8 BCbc	12,0 BCc	18,2 Bab	21,7 Ba
Ácido Ascórbico	18,3 Bab	14,3 Cb	14,0 BCb	20,4 Ba	21,9 Ba
	POD (10^3 U_{POD} g^{-1})				
Controle	5,3 Ac	7,3 Ac	17,2 Abc	31,6 Aab	70,6 Aa
Arginina	4,0 ABa	3,6 Aa	4,4 Ba	3,6 Ba	8,0 Ba
Cisteína	1,5 Bc	6,0 Ab	26,2 Aa	33,0 Aa	58,7 Aa
Ácido Cítrico	5,9 Ac	5,9 Ac	12,6 Abc	31,2 Aab	44,3 Aa
Ácido Ascórbico	3,1 ABc	4,7 Ac	17,7 Ab	19,3 Ab	62,3 Aa

Controle – água destilada; Arginina 25 mM pH 7,0; Cisteína 8 mM; Ácido cítrico 2000 mg L^{-1}; e Ácido ascórbico 2000 mg L^{-1}. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%. Dados transformados: POD: log(x).

Tabela 10. Teor de sólidos solúveis, açúcares totais, betaxantina e de flavonóis totais em beterrabas minimamente processadas tratadas com diferentes aditivos e armazenadas por 12 dias a 5±1°C e 90±5% UR.

Tratamentos	Sólidos Solúveis (%)	Açúcares Totais (%)	Betaxantina (mg g^{-1})	Flavonois totais (mg g^{-1})
Controle	8,56 B	38,56 A	2,18 A	0,88 C
Arginina	8,77 A	37,31 A	2,18 A	0,93 C
Cisteína	7,97 C	38,38 A	2,17 A	1,10 A
Ácido Cítrico	8,09 C	38,65 A	1,93 B	0,92 C
Ácido Ascórbico	8,14 C	38,14 A	2,20 A	1,03 B

Dias	0	3	6	9	12
Sólidos Solúveis (%)	8,15 c	8,42 ab	8,58 a	8,13 c	8,26 bc
Açúcares Totais (%)	37,5 ab	40,5 a	38,2 ab	38,9 ab	35,9 b
Betaxantina (mg g^{-1})	2,21 a	2,21 a	2,23 a	2,09 ab	1,93 b
Flavonois Totais (mg g^{-1})	0,95 c	0,93 c	0,92 bc	1,03 ab	1,04 a

Controle – água destilada; Arginina 25 mM pH 7,0; Cisteína 8 mM; Ácido cítrico 2000 mg L^{-1}; e Ácido ascórbico 2000 mg L^{-1}. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, são estatisticamente iguais entre si pelo teste Tukey considerando um nível de significância de 5%.