

EBENÉZER DE OLIVEIRA SILVA

**FISIOLOGIA PÓS-COLHEITA DE REPOLHO (*Brassica oleracea* cv.
capitata) MINIMAMENTE PROCESSADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de “*Doctor Scientiae*”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
AGOSTO DE 2000

EBENÉZER DE OLIVEIRA SILVA

**FISIOLOGIA PÓS-COLHEITA DE REPOLHO (*Brassica oleracea* cv.
capitata) MINIMAMENTE PROCESSADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de “*Doctor Scientiae*”.

APROVADA:

Prof. Paulo Mosquim
(Conselheiro)

Prof^a Nilda de Fátima Ferreira Silva

Dr. Celso Luiz Moretti

Dr^a Maria Aparecida Sediyama

Prof. Rolf Puschmann
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

CONTEÚDO

	Página
EXTRATO.....	X
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
3. ADEQUAÇÃO DE METODOLOGIA.....	10
3.1. ESPESSURA DE CORTE	10
3.2. SANITIZAÇÃO	12
3.3. CENTRIFUGAÇÃO.....	13
3.4. ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1. MATERIAL VEGETAL	23
4.2. COLHEITA E PRÉ-PROCESSAMENTO.....	23
4.3. PROCESSAMENTO MÍNIMO	23
Seleção e Padronização.....	24
Lavagem	25
Corte	25
Sanitização e Enxágüe.....	25
Centrifugação	25
Acondicionamento	25
Armazenamento	25
4.4. TAXA RESPIRATÓRIA (TR) E EVOLUÇÃO DE ETILENO (EE) EM REPOLHO INTACTO E MINIMAMENTE PROCESSADO	26
4.5. EFEITO DA TEMPERATURA NA TAXA RESPIRATÓRIA (TR) E NA EVOLUÇÃO DE ETILENO (EE) EM REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO.....	27
Sistema fechado	27
Sistema aberto	27
4.6. EFEITO DO CO ₂ , DO C ₂ H ₄ E DO O ₂ NA TAXA RESPIRATÓRIA (TR) DE REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO	27
Efeito do CO ₂	27
Efeito do C ₂ H ₄	28
4.6.3. Efeito do O ₂	28

4.7. EFEITO DA TEMPERATURA NA MODIFICAÇÃO DA ATMOSFERA EM EMBALAGENS PLÁSTICAS CONTENDO REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO	28
4.8. EFEITO DA QUANTIDADE DE REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO NA MODIFICAÇÃO DA ATMOSFERA INTERNA DAS EMBALAGENS PD 961 EZ	30
Sólidos solúveis.....	30
Vitamina C total.....	31
Cor	32
Polifenol oxidase (PPO - EC.1.10.3.1).....	32
4.9. CONSERVAÇÃO DE REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO EM DIFERENTES EMBALAGENS PLÁSTICAS	33
Perda de massa.....	34
Clorofila e carotenóides	34
Escurecimento e pH.....	34
Análise sensorial.....	34
4.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1. TAXA RESPIRATÓRIA (TR) E EVOLUÇÃO DE ETILENO (EE) DE REPOLHO INTACTO E MINIMAMENTE PROCESSADO	36
5.2. EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A TAXA RESPIRATÓRIA E EVOLUÇÃO DE ETILENO EM REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO	40
5.2.1. Sistema fechado	40
5.2.2. Sistema aberto	45
5.3. EFEITO DO CO ₂ , O ₂ (PCA) E C ₂ H ₄ NA TR DE REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO E ACONDICIONADO EM SISTEMA FECHADO	47
5.3.1. Efeito do CO ₂	48
5.3.2. Efeito do O ₂	49
5.3.3. Efeito do C ₂ H ₄	51
5.4. EFEITO DA TEMPERATURA NA MODIFICAÇÃO DA ATMOSFERA EM EMBALAGENS PLÁSTICAS CONTENDO REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO	53
5.5. EFEITO DA QUANTIDADE DE REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO NA MODIFICAÇÃO DA ATMOSFERA INTERNA DAS EMBALAGENS PD 961 EZ E NA QUALIDADE DO PRODUTO FINAL	56
5.5.1. Concentração de O ₂ e TR.....	56
5.5.2. Sólidos-solúveis, Vitamina C, Cor e PPO	58
5.6. CONSERVAÇÃO REFRIGERADA DE REPOLHO MINIMAMENTE PROCESSADO EM DIFERENTES EMBALAGENS PLÁSTICAS.....	63
5.6.1. Perda de massa.....	63
5.6.2. Dióxido de carbono e pH.....	63
5.6.3. Cor e clorofila	65
5.6.4. Sólidos-solúveis	69
5.6.5. Carotenóides.....	69
5.6.6. Vitamina C.....	70
5.6.7. Escurecimento	71
5.6.8. Análise sensorial.....	72
RESUMOS E CONCLUSÕES.....	74
CITAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS.....	76

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Modelo de ficha individual – contendo a escala hedônica – utilizada na análise sensorial do repolho minimamente processado.	11
Figura 2. Taxa respiratória do repolho minimamente processado nas duas espessuras de corte, durante um período de 2 horas.	12
Figura 3. Variação de massa (Δ massa, g) de repolho minimamente processado centrifugado por diferentes tempos. (Δ massa = massa do produto centrifugado - massa após o corte).	14
Figura 4. Variação de temperatura ($^{\circ}$ C) durante a centrifugação de repolho minimamente processado centrifugado por diferentes tempos.	15
Figura 5. Taxa respiratória (a), produção de etileno (b), $^{\circ}$ Brix (c) e vitamina C (d) em repolho minimamente processado e centrifugado por diferentes tempos.	16
Figura 6. Ângulo Hue (a), índice de escurecimento (b) e brilho (c) de repolho minimamente processado centrifugado por diferentes tempos.	18
Figura 7. Teores de vitamina C, em repolho minimamente processado, centrifugado por diferentes tempos e armazenado, por oito dias, na temperatura de $5 \pm 1^{\circ}$ C.	19
Figura 8. Absorvância de diferentes substratos utilizados para quantificar a atividade da polifenol oxidase (PPO) em repolho minimamente processado.	21
Figura 9. Absorvância a 425 nm (A_{425nm}) para a solução de catecol (0,1 M).	22
Figura 10. Variação de absorvância, a 425 nm, em extratos de repolho minimamente processado.	22
Figura 11. Fluxograma para o processamento mínimo de repolho.	25
Figura 12. Concentração de dióxido de carbono (CO_2) e etileno (C_2H_4) - a - e Taxa respiratória (TR) e evolução de etileno (EE) - b - em repolho intacto, mantido a 25° C, num sistema fechado.	37
Figura 13. Efeito do processamento mínimo do repolho sobre a concentração de dióxido de carbono (CO_2) e etileno (C_2H_4) - a – e taxa respiratória	

(TR) e evolução de etileno (EE) - b – na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, num sistema fechado.....	39
Figura 14. Concentração de CO_2 - a – e Taxa respiratória (TR) - b - de repolho minimamente processado, acondicionado num sistema fechado e mantido em diferentes temperaturas ($^\circ\text{C}$), por 12 horas.....	41
Figura 15. Concentração de C_2H_4 - a - e Evolução de etileno (EE) - b - de repolho minimamente processado e acondicionado num sistema fechado mantido em diferentes temperaturas ($^\circ\text{C}$), por 12 horas.....	44
Figura 16. Taxa respiratória (TR) - a - e evolução de etileno (EE) - b - em repolho minimamente processado, mantido num sistema aberto por 15 dias, em diferentes temperaturas.	47
Figura 17. Efeito da presença e ausência de CO_2 na taxa respiratória (TR) - a - e consumo de O_2 - b - de repolho minimamente processado, armazenado por 12 horas num sistema fechado.....	49
Figura 18. Taxa respiratória (TR), de repolho minimamente processado, em diferentes concentrações de O_2	51
Figura 19. Influência do etileno sobre a taxa respiratória (TR), de repolho minimamente processado, armazenado por 12 horas, num sistema fechado com HgClO_4	52
Figura 20. Concentração de CO_2 e O_2 nas embalagens PD 961 EZ, contendo repolho minimamente processado, durante o armazenamento refrigerado, nas temperaturas de 5 e 10°C	54
Figura 21. Taxa respiratória (TR) de repolho minimamente processado acondicionado em PD 961 EZ e armazenado nas temperaturas de 5 e 10°C , por 15 dias.	55
Figura 22. Concentração interna de O_2 – a – e taxa respiratória – b – durante o armazenamento refrigerado de repolho minimamente processado e acondicionado em diferentes quantidades nas embalagens plásticas PD 961 EZ.	57
Figura 23. Concentração de CO_2 em função da concentração de O_2 , na atmosfera interna das embalagens PD 961 EZ, contendo diferentes quantidades de repolho minimamente processado, durante o armazenamento refrigerado, a 5°C , por sete dias.	58
Figura 24. Teor de sólidos-solúveis ($^\circ\text{Brix}$) – A – e teor de vitamina C – B – de repolho minimamente processado, acondicionado em PD 961 EZ e armazenado, a 5°C , por sete dias.	59
Figura 25. Brilho (L^*) – A ; DE (CTLab^*) – B ; ângulo hue (CTLab^*)– C ; e atividade da PPO – D – de repolho minimamente processado, acondicionado em PD 961 EZ e armazenado, a 5°C , por sete dias..	62
Figura 26. Massa relativo de repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens e armazenado por sete dias, na temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$	63
Figura 27. Efeitos das embalagens sobre o acúmulo de CO_2 na atmosfera interna das diferentes embalagens – A – e pH do repolho minimamente processado – B – durante o armazenamento refrigerado por sete dias.....	64

Figura 28. Brilho – A – incremento de escurecimento – B – e Hue – C – de repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenados, na temperatura de 5°C, por sete dias.	67
Figura 29. Valores de clorofila total (mg g ⁻¹ MF), em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenado, a 5 ± 1°C, por sete dias.	68
Figura 30. Sólidos-solúveis, expressos em °Brix, em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenado, a 5 ± 1°C, por sete dias.	69
Figura 31. Teores de carotenóides (mg g ⁻¹ MF), em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenado, a 5 ± 1°C, por sete dias.	70
Figura 32. Teores de vitamina C, em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas armazenados, a 5°C, por sete dias.	71
Figura 33. Escurecimento (A ₃₄₀) em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens e armazenado, a 5°C, por sete dias.	72

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Médias das notas obtidas pelo teste de aceitabilidade para repolho minimamente processado para as duas espessuras de corte.....	11
Tabela 2. Médias dos valores de pH da solução sanitizante, reutilizada por três vezes, mantendo-se a proporção de 3 kg de repolho minimamente processado para 15 litros de solução sanitizante	13
Tabela 3. Substrato, concentração e atividade de PPO em repolho minimamente processado.....	20
Tabela 4. Taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO_2), gás carbônico ($TPCO_2$) e ao vapor d'água (TPH_2O) da embalagem PD 961 EZ (poliolefina multicamada)	29
Tabela 5. Quantidades de repolho minimamente processado acondicionado nas embalagens PD 961 EZ, o ponto de selagem, o volume interno vazio, a área superficial externa e as relações $VIV Q^{-1}$ e $VIV A^{-1}$ e $A Q^{-1}$	30
Tabela 6. Dimensões, ponto de selagem (PS), taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO_2), ao gás carbônico ($TPCO_2$) e ao vapor d'água (TPH_2O) das embalagens plásticas utilizadas nesse experimento....	33
Tabela 7. Valores de Q_{10} , para a TR de repolho minimamente processado, mantido em sistema fechado por 12 horas, em diferentes temperaturas ($^{\circ}C$).	41
Tabela 8. Valores calculados da energia de ativação do CO_2 na respiração ($E_{CO_2}^R$), de repolho minimamente processado, armazenados, num sistema fechado, por 12 horas, em diferentes temperaturas.....	43
Tabela 9. Concentração de O_2 (calculada e medida) na atmosfera interna dos frascos, após o fluxo de N_2 ($30 mL min^{-1}$) durante o período de tempo estipulado	50

Tabela 10. Médias das notas obtidas pelo teste de aceitabilidade para repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenados, a $5 \pm 1^\circ\text{C}$, por sete dias.....	73
--	----

EXTRATO

SILVA, Ebenézer de Oliveira Silva, D. S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2000. *Fisiologia pós-colheita de repolho (Brassica oleracea cv. capitata) minimamente processado*. Professor Orientador: Rolf Puschmann, Professores Conselheiros: Fernando L. Finger e Paulo R. Mosquim.

Nos últimos anos, as mudanças no estilo de vida das pessoas, diminuindo o tempo disponível para o preparo das refeições, bem como a tendência crescente de obtenção, pelos consumidores, de alimentos frescos, convenientes e com alta qualidade sensorial e nutricional, estimularam o crescente interesse pela produção de frutos e hortaliças minimamente processados. No presente trabalho, estudou-se as características dos efeitos fisiológicos e bioquímicos desencadeados pelo processamento mínimo, visando-se desenvolver tecnologia adequada para o processamento mínimo de repolho, para uso comercial. Foram estabelecidos métodos para a análise da taxa respiratória e da evolução de etileno no produto intacto e minimamente processado, caracterizando-se, posteriormente, a espessura do corte, o tempo de centrifugação, a temperatura ideal para o armazenamento refrigerado, a concentração de gases na atmosfera modificada passiva, a relação entre a quantidade de produto a área superficial da embalagem e o tipo de embalagem a ser utilizada. O corte aumentou a taxa respiratória e a evolução de etileno em aproximadamente 8 e 13 vezes, respectivamente. Semelhantemente, a elevação da temperatura, também, aumentou a taxa respiratória e a evolução do etileno no repolho minimamente processado, indicando a temperatura de

5°C como a mais propícia para o armazenamento desse produto. O CO₂, C₂H₄ e O₂ , presentes na atmosfera interna, exerceram efeitos marcantes na taxa respiratória do produto minimamente processado, sendo o ponto de compensação anaeróbica na faixa de 0,3% de O₂. No entanto, as taxas de permeabilidade ao O₂ e CO₂, nas embalagens a serem utilizadas no acondicionamento de 1g de repolho minimamente processado, foram respectivamente na faixa de 1,4 a 1,9 cm³ de O₂ dia⁻¹ e de 4,2 a 5,6 cm³ de CO₂ dia⁻¹. As embalagens PEBD, PEAD e PP são apropriadas para o armazenamento refrigerado de repolho minimamente processado, por um período de sete dias na temperatura de 5°C, desde que as relações acima sejam mantidas.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o consumidor é o principal foco de atenção EM QUALQUER NEGÓCIO QUE SE PRETENDA ESTABELEECER, INCLUSIVE O agro-alimentar, por isso acompanhar as mudanças de comportamento da população é de fundamental importância para os produtores que pretendem atender ao mercado conforme suas necessidades. A participação crescente das mulheres no mercado de trabalho tem reduzido o tempo para a compra de hortaliças e seu preparo nas refeições. Além disso a diminuição no tamanho das famílias e a maior preocupação com a saúde, resultam num consumidor mais consciente e mais exigente (Souza et al., 1998).

Em função do novo perfil do consumidor, o mercado deve – além de outros serviços – oferecer hortaliças *in natura*, desenvolvidas sob medida para serem convenientes – menor tempo de preparo – e com alto valor agregado, ou seja, minimamente processadas.

A produção de vegetais minimamente processados tem sido um dos segmentos do agronegócio que apresentou maior expansão nos últimos anos e a uma grande expectativa de crescimento para um futuro próximo. Os minimamente processados, mais consumidos, são obtidos a partir das hortaliças largamente utilizadas pela população, bem como o de produtos consumidos regionalmente mas com grande potencial de expansão. Dentre eles destaca-se a alface, o brócoli, a couve e o repolho. Esse último, além de ser altamente consumido pela população brasileira, apresenta boa agregação de valor, o que viabilizaria seu uso como minimamente processado.

As injúrias mecânicas resultantes do processamento mínimo em repolho, como em outras hortaliças, depreciam a qualidade do produto e reduzem o prazo de validade do mesmo nas gôndolas dos supermercados (Avhenainem, 1996). Alterações fisiológicas e bioquímicas podem resultar em aumento da taxa respiratória e da evolução de etileno, acúmulo de compostos fenólicos solúveis, escurecimento enzimático, perda de vitamina C, degradação de pigmentos e perda das características sensoriais.

O abaixamento da temperatura do produto, antes, durante ou mesmo depois do processamento, pode reduzir taxas metabólicas dos tecidos e é considerada a técnica de conservação pós-colheita mais eficaz para os minimamente processados. Junto ao controle da temperatura, sua conservação depende, também, da embalagem a ser utilizada, para que venha estender a vida útil do material a ser utilizado.

A qualidade do produto minimamente processado depende então da conservação das características organolépticas próprias da hortaliça e da segurança alimentar (O QUE É SEGURANÇA ALIMENTAR?), do ponto de vista microbiológico, tendo em vista vários fatores, tais como matéria prima, condições de processamento, acondicionamento e armazenamento refrigerado.

Em face desses problemas, o presente trabalho teve como objetivo utilizar o repolho como um sistema de estudo que permitisse manipular e adaptar convenientemente as técnicas de conservação pós-colheita de hortaliças, visando o desenvolvimento de tecnologia capaz de produzir minimamente processados de excelente qualidade – sensorial e nutricional – e com vida de prateleira suficiente para a distribuição, comercialização e consumo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O processamento mínimo de hortaliças é um empreendimento voltado para a verticalização da produção agrária, proporcionando agregação de valor – melhor preço – ao produto comercializado. O valor agregado desses produtos melhora a competitividade do setor de hortifruticultura O QUE É ISSO??., proporcionando novos canais de comercialização e escoamento da produção, através dos quais se espera um importante impacto econômico e social pela redução das perdas, pela geração de renda ao produtor e, principalmente, pela geração de empregos, tanto diretos como indiretos.

Por definição, o produto minimamente processado é “qualquer fruto ou hortaliça, ou combinação destas, que tenha sido fisicamente alterada mas que permaneça no seu estado *“in natura”* (International Fresh-cut Produce Association – IFPA, 1999). O processamento mínimo é, então, a transformação *“in natura”* de partes vegetais, por meio das etapas de pré-seleção, lavagem, classificação, corte, sanitização, enxágüe, centrifugação, embalagem e armazenamento refrigerado.

Por questões de custo, comodidade e higiene, as empresas que trabalham com alimentação (restaurantes com sistema de comida a quilo, restaurantes tradicionais, cozinhas industriais e empresas de “catering”) estão procurando utilizar vegetais (frutos e hortaliças) minimamente processados. As hortaliças minimamente processadas têm-se tornado cada vez mais populares, tanto em nível institucional como doméstico, pela conveniência aliada à elevada qualidade sensorial, pelos benefícios de um produto seguro. A

quantidade de hortaliças comercializadas nessa forma, nos Estados Unidos, no período de 1980 a 1988, aumentou em 30%, o equivalente a 7,5 bilhões de quilos (Schlimme, 1995).

Por tratar-se de um produto injuriado, principalmente pelo corte, a sua vida de prateleira é reduzida, em relação ao produto não processado (Cantwel, 1992), apresentando comportamento fisiológico de tecidos vegetais submetidos a condições de estresse (Brecht, 1995). As respostas fisiológicas conseqüentes das injúrias mecânicas provocadas pelo processamento mínimo podem acelerar a perda de qualidade, reduzir a vida de prateleira e modificar os atributos sensoriais (Wiley, 1994). As principais alterações são a perda de integridade celular na superfície cortada, a lignificação da parede celular e a degradação microbiológica dos tecidos. Além disso pode ocasionar a descompartimentação de enzimas e seus substratos, aumento da taxa respiratória (TR), da evolução de etileno (EE), de compostos fenólicos solúveis e totais e da atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL), peroxidases (POD), catalases (CAT) e polifenol oxidases (PPO) (Priepke et al., 1976; Rolle e Chism, 1987; Avena-Bustillos et al., 1993; Kim et al., 1994; Nicoli et al., 1994; Brecht, 1995 e Ahvenainen, 1996).

Muitos fatores podem afetar a intensidade da resposta fisiológica ao processamento mínimo, dentre os quais pode-se destacar a espécie e variedade utilizada, o estágio de maturidade fisiológica, a extensão dos danos mecânicos, a temperatura, o déficit de pressão de vapor d'água e as concentrações de O₂ e CO₂ (Brecht, 1995). O aumento da TR e da EE são efeitos fisiológicos e bioquímicos, que podem ser estimulados pelo processamento mínimo e que estão inversamente relacionados com a vida de prateleira do produto (Watada et al., 1990). A degradação das membranas, o escurecimento enzimático, a cicatrização da superfície cortada, os metabólitos secundários e a perda d'água e vitaminas também são de grande importância (Cantwel, 1992 e Brecht, 1995).

Em hortaliças folhosas, como a alface e a chicória, após cortadas, embaladas e armazenadas a 4°C, a TR aumentou em relação ao controle, ou seja, folhas intactas armazenadas nas mesmas condições (Priepke et al., 1976). Esse fenômeno pode ser verificado também em melões (McGlasson e

Pratt, 1964), tomates (Lee et al., 1970) e Kiwi (Watada et al., 1990), minimamente processados.

O aumento na EE, causado pela injúria mecânica, acelera os processos de senescência em tecidos vegetais (Abeles et al., 1992). O etileno resultante da ação física do processamento mínimo foi suficiente para acelerar a perda de clorofila em espinafre (*Spinacia oleracea* L.) mas não em brócoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica Group) (Abe e Watada, 1991). Em espinafre, isso ocorre porque o aumento da atividade de clorofilase está diretamente relacionado com o aumento da síntese do etileno (Sabater e Rodriguez, 1978; Rodriguez et al., 1987; Watada et al., 1990 e Yamauchi e Watada, 1991).

Durante o processamento mínimo, ocorre destruição mecânica de parte do sistema de membranas na superfície cortada (Rolle e Chism, 1987), ocorrendo posteriormente uma degradação enzimática mais extensa (Watada et al., 1990 e Brecht, 1995). Em tecidos vegetais, a descompartimentação celular proporciona maior contato entre os sistemas geradores de etileno (Watada et al., 1990) e, também, um incremento na síntese e na atividade da ACC sintase, o que culmina no acúmulo, nesses tecidos, do ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), precursor do etileno (Hyodo, 1991). Na presença de O₂ esse ACC pode ser rapidamente oxidado a etileno, em reação catalisada pela enzima ACC oxidase (Abeles et al., 1992). O etileno produzido nesses tecidos acelera a degradação de outras membranas celulares, aumentando ainda mais a permeabilidade e a destruição do tecido (Brecht, 1995).

O escurecimento enzimático, em tecidos cortados, ocorre como resultado da descompartimentação de substratos e enzimas oxidases, pois submete o tecido a maiores exposições ao oxigênio. Pode ocasionar também a indução de algumas enzimas envolvidas nesse processo (Rolle e Chism, 1987). O processo de injúria e o aumento na EE induzem aumentos na atividade da PAL, a qual catalisa a biossíntese de fenilpropanóides. O escurecimento ocorre quando os produtos do metabolismo dos fenilpropanóides, como os compostos fenólicos e possivelmente outros substratos, são oxidados em reações catalisadas por fenolases, como a PPO e POD (Brecht, 1995). Em alface minimamente processada, a maior EE intensificou o escurecimento oxidativo, por meio da indução da PAL e da PPO.

Nesse caso, o escurecimento iniciou entre os dias três e quatro após o processamento, e depreciou a qualidade visual da alface armazenada, a 2,5°C, por seis a dez dias (Couture et al., 1993). O etileno e o processo de injúria induzem a atividade da PAL, mas, aparentemente, por mecanismos diferentes (Abeles et al., 1992). Em cenoura minimamente processada, onde a ocorrência de enbranquiçamento (ESBRANQUIÇAMENTO??) (TAL FENÔMENO NÃO SERIA PRINCIPALMENTE DEVIDO À RUPTURA DE TECIDOS CELULARES QUE, PELA PERDA DE ÁGUA, APRESENTARIAM ASPECTO TRANSLÚCIDO/BRILHANTE??) da superfície cortada é resultado da atividade da PAL e da POD, a utilização de absorvedores de etileno não evitou o aparecimento desse sintoma (Howard e Griffin, 1993), evidenciando em conformidade com Watada e Qi (1999), que a redução da TR e da EE, utilizando-se baixas temperaturas (Kim et al., 1993; Howard et al., 1994) associadas com atmosfera modificada (Barth et al., 1993; Nicoli et al., 1994), poderiam reduzir o metabolismo enzimático do produto minimamente processado, retardando, assim, o desenvolvimento desses sintomas indesejáveis ao produto comercial. Por outro lado, pode-se também reduzir a atividade dessas enzimas pela utilização de substâncias inibidoras tais como o álcool, cisteína, ácido ascórbico e outros (Sapers et al., 1994).

O aumento na atividade do metabolismo secundário em tecidos minimamente processados, resulta em compostos secundários que possivelmente estão relacionados com o processo de cicatrização ou de defesa contra o ataque de microrganismos e insetos. Esses compostos secundários são constituídos de fenilpropanóides fenólicos, flavonóides, terpenóides, alcalóides, taninos, glucosinolatos, ácidos graxos de cadeia longa e álcoois (Taiz e Zaiger, 1991; Salisbury e Ross, 1992), os quais afetam o aroma, a aparência e o valor nutritivo das hortaliças minimamente processadas. O termo cicatrização, para tecidos vegetais cortados, geralmente, é usado como referência à produção e à deposição de suberina e lignina nas paredes celulares dos tecidos danificados (Brecht, 1995), com a possível divisão celular abaixo da camada suberizada para formar a “periderme danificada” (Burton, 1982). A suberização e a formação da “periderme danificada” são influenciadas pelo ambiente ao redor do tecido, mas poucos

são os estudos nesse sentido em hortaliças folhosas.

Em tecidos cortados, a água dos espaços intercelulares, na superfície do corte, fica em contato direto com atmosfera aumentando drasticamente a taxa de evaporação de água, o que não ocorre em tecidos intactos. Para a maioria das hortaliças folhosas, esse aumento na taxa de evaporação, eleva a perda de água de 10 a 100 vezes (Brecht, 1995), acarretando perda de massa e de valor nutritivo, com o conseqüente desenvolvimento de aparência indesejável.

Em minimamente processados, a perda qualitativa, monitorada principalmente pela vitamina C (Favell, 1998), está diretamente relacionada com o aumento da TR, da EE e com a descompartimentação celular, além dos fatores ambientes e genéticos, tais como calor, luz, O₂, pH, espécie e variedade cultivada (Klein, 1987). Em vagem e alface minimamente processadas e armazenadas em refrigerador, por seis dias, verificou-se comportamento diferente entre as espécies, enquanto que na alface, ocorreu uma queda de 50% nos teores de vitamina C, a vagem manteve a vitamina C com os mesmos teores do início do armazenamento refrigerado (Klein, 1987) (NÓS OBSERVAMOS O MESMO PARA PIMENTÃO MINIMAMENTE PROCESSADO).

A presença e a atividade de microrganismos patogênicos de importância clínica, nos produtos minimamente processados e embalados, é outro aspecto de essencial importância na cadeia de processamento e comercialização. O exsudato proveniente do corte dos tecidos é um excelente meio de cultura para o crescimento de fungos e bactérias e o subsequente manuseio cria possibilidades para o desenvolvimento da microflora (Burns, 1995). A ocorrência de doenças veiculadas por alimentos (DVA) decorrentes da ação de microrganismos patogênicos em minimamente processados aumenta os riscos de toxinfecção alimentar, pois na maioria das vezes, esses produtos são consumidos sem qualquer tratamento térmico posterior (Nguyen-the e Carlin, 1994). O desenvolvimento da microbiota contaminante, em minimamente processados, pode ser controlado pelo pH (O'Connor-Shaw et al., 1994), por temperaturas baixas (Bolin e Huxsoll, 1991), por atmosfera modificada (Priepke et al., 1976; Lopez-Malo et al., 1994) e pela sanitização (Hurst, 1995). Para repolho minimamente processado, a dosagem de 150 ppm

de cloro ativo é suficiente para controlar fungos e bactérias (Fantuzzi, 1999). No entanto, em dosagens acima desse nível, o cloro pode causar danos ao material vegetal, tais como descoloração, queima e cheiro desagradável (Simons e Sanguansri, 1997).

A manutenção de uma “Cadeia de Frio” (O QUE É CADEIA DE FRIO), desde o processamento até a comercialização, é sem dúvidas a principal técnica disponível para retardar os efeitos indesejáveis do processamento mínimo, uma vez que o abaixamento da temperatura reduz os processos enzimáticos, como a TR e a EE (Wills et al., 1998) e, conseqüentemente, retarda os processos de senescência, ampliando a vida de prateleira dos produtos minimamente processados. O abaixamento da temperatura, no entanto, deve atingir níveis suficientes para manter as células vivas, porém de forma a preservar a qualidade dos produtos durante o período de armazenamento e comercialização, não permitindo que ocorra o congelamento dos tecidos.

O abaixamento no nível de O₂ pela atividade respiratória (Wills et al., 1998) reduz o metabolismo respiratório, a biossíntese e ação do etileno (Abeles et al., 1992). Por outro lado, o CO₂, acumulado nas embalagens por razão da atividade respiratória, atua como inibidor da respiração (Wills et al., 1998) e também da ação do etileno (Abeles et al., 1992). Assim, tem-se, simultaneamente, o efeito da redução da TR e da EE aliada à menor ação desse hormônio, fazendo com que os produtos tenham o seu período de comercialização ampliado, consideravelmente (McKeon e Yang, 1987). Nesse caso, a microatmosfera desejável, criada dentro das embalagens, pode ser transportada facilmente junto com o produto, tomando-se os cuidados para que o aumento na concentração de CO₂ não atinja níveis indesejáveis (Hobson e Burton, 1989), nem a redução da concentração de O₂ facilite a respiração anaeróbica.

A utilização de baixas temperaturas, associada com atmosfera modifica, durante o armazenamento, reduz a ascensão respiratória e a síntese de etileno em hortaliças folhosas minimamente processadas como a alface (Singh et al., 1972a, b) e o brócoli (Barth et al., 1993) e também em frutos de maçã (Kim et al., 1993; Nicoli et al., 1994), melão, kiwi, mamão e abacaxi (O'Connor-shaw et al., 1994) minimamente processados.

As recentes publicações mostraram que a maioria dos estudos científicos, em hortaliças minimamente processadas, estão voltados para a qualidade comercial do produto, a qual é determinada, objetivamente ou subjetivamente, pelas medidas de cor, flavor (SABOR E AROMA), textura e, também, pelas determinações microbiológicas. Por outro lado, pouco tem sido estudado sobre as transformações fisiológicas e bioquímicas do produto minimamente processado e as suas consequências no valor nutricional desses alimentos, o qual pode ser determinado pelo conteúdo de vitaminas, açúcares, amino ácidos e fibras. Isto torna clara a necessidade de mais pesquisas relacionadas com os efeitos do processamento mínimo nas transformações fisiológicas e bioquímicas e, conseqüentemente, dos seus reflexos na qualidade nutricional dessa nova gama de alimentos.

3. ADEQUAÇÃO DE METODOLOGIA

O processamento mínimo de vegetais é uma prática recente no Brasil, portanto, as metodologias de pesquisa científica, nas áreas fisiológicas e bioquímicas, precisaram passar por um processo de adequação ao estudo do repolho minimamente processado; começando pelo corte, sanitização, centrifugação e escurecimento enzimático

A seguir serão apresentados os resultados dos processos de adequação metodológica para os estudos dos efeitos fisiológicos e bioquímicos do processamento mínimo em repolho.

3.1. Espessura de corte

A espessura do corte, em repolho minimamente processado, bem como em qualquer outra hortaliça minimamente processada, constitui um dos aspectos visuais de extrema importância para a aceitabilidade do produto.

O presente trabalho analisou, por meio de testes sensoriais, a aceitabilidade de duas espessuras de corte em repolho minimamente processado. As amostras foram preparadas utilizando-se processador de vegetais equipado com lâminas de corte que fornecem as espessuras de 1 - 3 mm e 10 ± 2 mm. Nos testes sensoriais, realizados no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (DTA/UFV), os provadores avaliaram as amostras em relação à aparência, usando uma escala hedônica de nove pontos (Figura 1). A aparência das amostras, servidas em pratos transparentes descartáveis e

codificados com números aleatórios de três dígitos, foi avaliada dentro de cabines individuais, equipadas com sistema de iluminação branca.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na aceitabilidade entre as amostras de repolho minimamente processado, com relação às espessuras de corte estudadas (Tabela 1).

ESCALA HEDÔNICA	
Nome: .	Data:
<p style="text-align: center;">Por favor avalie a amostra utilizando a escala abaixo para escrever o quanto você gostou ou desgostou do produto, em relação a APARÊNCIA. Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.</p>	
Código da Amostra:	
(9) Gostei extremamente (8) Gostei muito (7) Gostei moderadamente (6) Gostei ligeiramente (5) Indiferente (4) Desgostei ligeiramente (3) Desgostei moderadamente (2) Desgostei muito (1) Desgostei extremamente	
Comentários: _____	

Figura 1. Modelo de ficha individual – contendo a escala hedônica – utilizada na análise sensorial do repolho minimamente processado.

Tabela 1. Médias das notas obtidas pelo teste de aceitabilidade para repolho minimamente processado para as duas espessuras de corte

ESPESSURA	MÉDIAS
1 - 3 mm	6,2 a
10 ± 2 mm	5,9 a

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na coluna, não diferem significativamente ($p > 0,05$).

No entanto, o repolho minimamente processado, na espessura de 1mm, apresentou, meia hora após o corte, taxa respiratória (TR), em torno de

112 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, enquanto que na espessura de 10mm, 75 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, ou seja, aproximadamente 50% maior na espessura de 1mm (Figura 2).

Nos tempos subsequentes – conforme Figura 2 –, o repolho minimamente processado, na espessura de 1 mm, apresentou TR sempre superior a do repolho cortado na espessura de 10 mm.

Apesar do tecido mais fino apresentar maior taxa respiratória e, por isso admitindo-se que o mesmo seja mais susceptível à senescência, o estudo das condições adequadas a sua conservação, provavelmente satisfariam ao produto com corte mais espesso. (NÃO ENTENDI ESTA JUSTIFICATIVA. Explique melhor!!) Por esta razão, nos estudos subsequentes utilizou-se a espessura de corte na faixa de 1 - 3 mm, mesmo apresentando maior taxa respiratória.

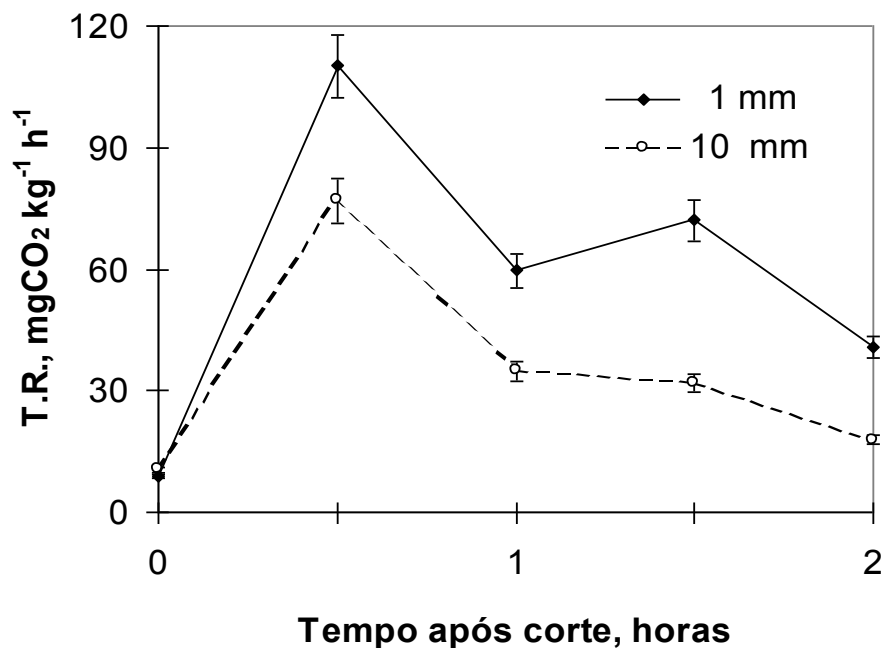


Figura 2. Taxa respiratória do repolho minimamente processado nas duas espessuras de corte, durante um período de 2 horas.

3.2. Sanitização

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de sanitizações consecutivas na variação de pH da solução sanitizante, uma vez que a quantidade de cloro ativo é altamente dependente do pH da solução, sendo a faixa ideal em torno de 6,0 a 7,0.

Após o corte, o produto, acondicionado em sacos de nylon, foi imerso, por 10 minutos, em solução aquosa de Sumaveg, na concentração de 150 ppm, na temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

Na adequação da etapa de sanitização, utilizou-se a mesma solução sanitizante por três vezes, mantendo-se constante a mesma proporção de 3 kg de produto para 15 litros de solução sanitizante. A utilização de solução sanitizante tem como finalidade a higienização microbiológica do produto, tornando-o seguro como alimento.

Não houve variação significativa no pH da solução sanitizante ($p > 0,05$) com relação às três imersões, sugerindo que, durante o processamento mínimo de repolho, a mesma solução sanitizante pode ser reutilizada por três vezes (Tabela 2).

Tabela 2. Médias dos valores de pH da solução sanitizante, reutilizada por três vezes, mantendo-se a proporção de 3 kg de repolho minimamente processado para 15 litros de solução sanitizante

TRATAMENTOS (número de imersões)	PH
3	6.4633 a
2	6.4200 a
1	6.4067 a

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na coluna, não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

3.3. Centrifugação

A centrifugação, no processamento mínimo de hortaliças, é uma das etapas mais importantes do processo porque possui as funções de retirar o excesso de água proveniente das etapas de sanitização e enxágüe e, também, os exsudados celulares resultantes do corte, o qual é um excelente meio para o crescimento de fungos e bactérias. No entanto, necessitou-se adequar o melhor tempo para a centrifugação do repolho minimamente processado.

Após o corte, as amostras, acondicionadas em sacos de nylon, foram centrifugadas, a 800 g, por 4, 6, 8, 10, 12 e 14 minutos, medindo-se, logo em seguida, o massa, a temperatura do produto, a TR, a evolução de etileno (EE), o teor de sólidos-solúveis, o teor de vitamina C e a cor. Para as medidas de cor

utilizou-se um colorímetro triestímulo (L, a, b), cujos dados foram expressos na forma de ângulo Hue e o índice de escurecimento (IE).

Amostras, constituídas de 200g de repolho minimamente processado, foram acondicionadas em sacos de poliolefinas multicamadas (PD 961 EZ) e armazenadas por oito dias em expositor vertical, na temperatura de 5 ± 1 °C. Durante 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento, foram retiradas amostras para a análise de vitamina C.

Considerando-se os diferentes tempos de centrifugação, observou-se que o tempo de dez minutos foi suficiente para retirar todo o excesso de água proveniente das etapas de sanitização e enxágue (Figura 3), ou seja, o massa do produto, logo após a centrifugação por 10 minutos, foi o aproximadamente o mesmo obtido após o corte.

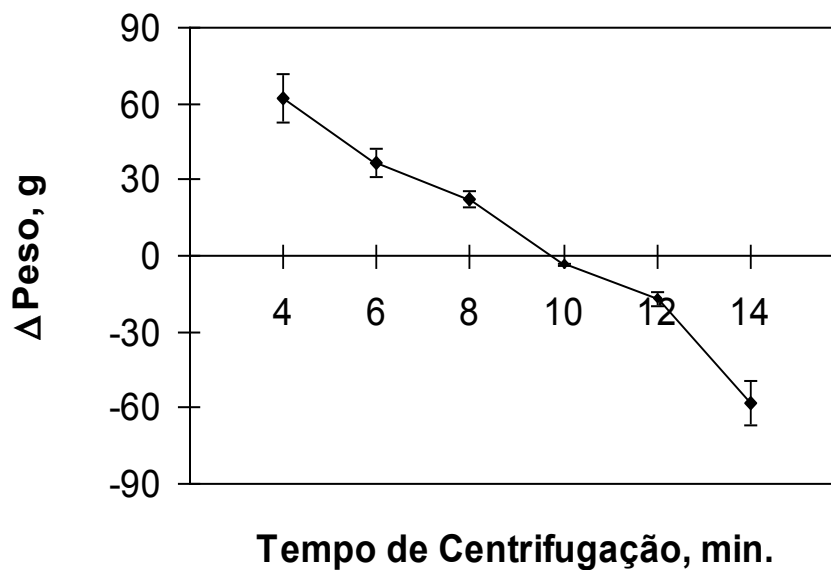


Figura 3. Variação de massa (Δ massa, g) de repolho minimamente processado centrifugado por diferentes tempos. (Δ massa = massa do produto centrifugado - massa após o corte).

Observa-se que a centrifugação, por períodos de tempo inferiores a 10 minutos, não é suficiente para retirar o excesso de água do produto, enquanto que nos tempos superiores a 10 minutos, a mesma operação provoca uma leve desidratação dos tecidos (Figura 3).

A temperatura do produto, no entanto, aumentou de forma linear até dez minutos de centrifugação, passando de 9°C para aproximadamente 13°C. Para os tempos de centrifugação subsequentes, variando muito pouco (Figura 4). Esse aquecimento ocorreu, possivelmente, devido ao efeito do atrito entre o produto minimamente processado e o ar dentro da centrífuga ou mesmo pelo aquecimento da centrífuga.

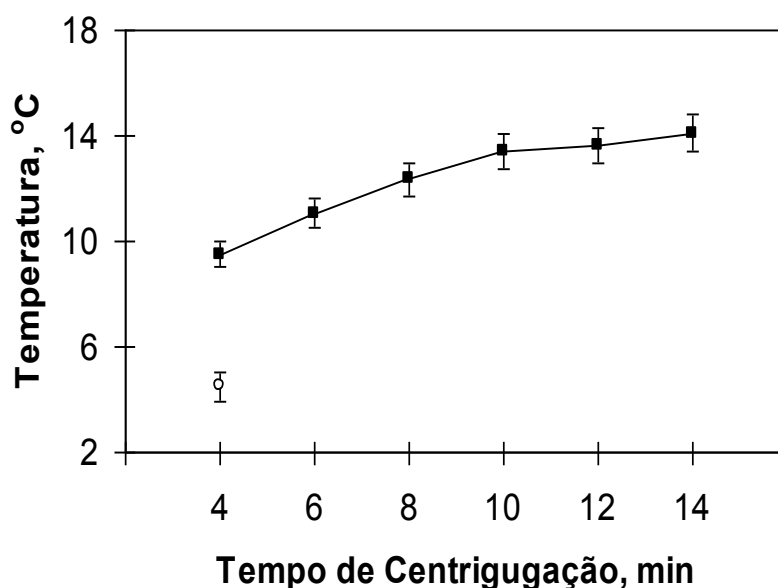


Figura 4. Variação de temperatura (°C) durante a centrifugação de repolho minimamente processado centrifugado por diferentes tempos.

Analisando-se os efeitos dos tempos de centrifugação, no comportamento dos parâmetros bioquímicos, observou-se que o incremento da TR (Figura 5a) seguiu um padrão aproximadamente “sigmoidal” até 12 minutos de centrifugação, apresentando a seguir - em 14 minutos de centrifugação - um crescimento ainda maior, o que pode ter ocorrido em resposta ao maior dessecamento do produto (Figura 3) e ao aumento da produção de etileno, a partir de dez minutos (Figura 5b); o mesmo acontecendo com o teor de sólidos-solúveis (Figura 5c). Esse aumento no teor de sólidos-solúveis (S.S., °Brix) nos leva a sugerir que o vegetal está mobilizando as suas reservas pela maior utilização na TR.

A Vitamina C apresentou tendência de queda nos primeiros tempos de

centrifugação (4, 6 e 8 minutos), provavelmente por efeito de diluição pela quantidade de água (Figura 1) aderida à superfície e parede celular das células danificadas no corte. Nos tempos subsequentes, os teores de vitamina C, inicialmente apresentaram uma tendência de elevação, provavelmente devido à retirada total do excesso de água (Figura 1), no entanto, permaneceram constantes até o final do experimento (Figura 5d).

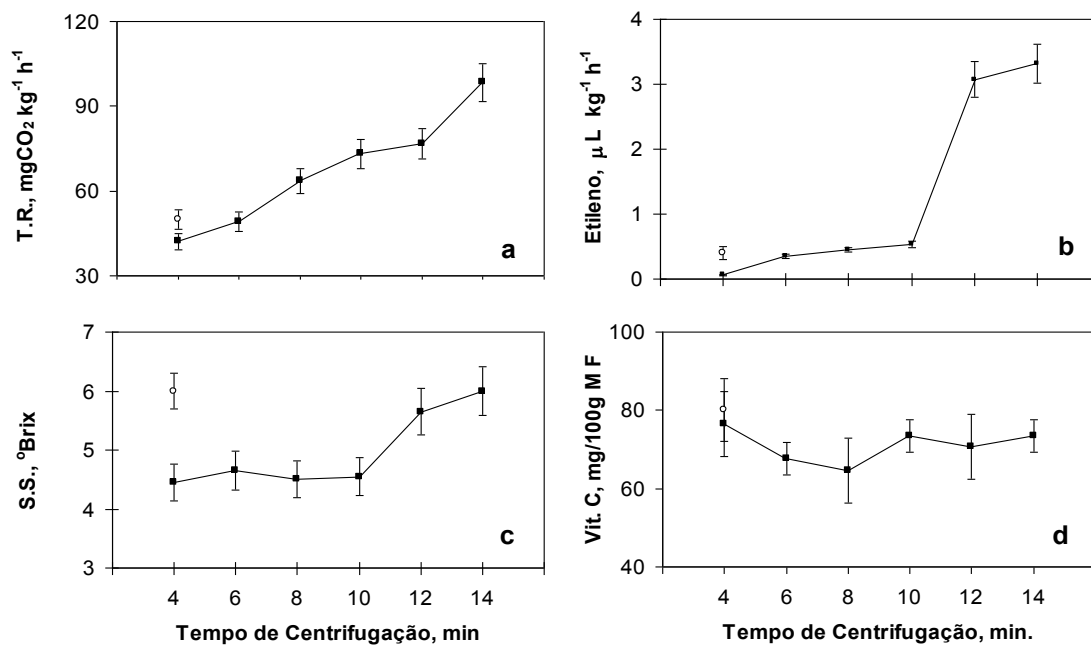


Figura 5. Taxa respiratória (a), produção de etileno (b), °Brix (c) e vitamina C (d) em repolho minimamente processado e centrifugado por diferentes tempos.

A cor superficial do repolho minimamente processado foi acompanhada, nos diferentes tempos de centrifugação, utilizando-se um colorímetro (Colortec-PCM) calibrado com a cor branca. Determinou-se as variações de cor por meio do ângulo Hue ($\tan^{-1} b/a$), o qual mede a retenção da cor verde e o índice de escurecimento (IE), o qual mede o aparecimento da coloração marrom no produto, sendo por isso um importante parâmetro em processos onde ocorrem escurecimento enzimático e não-enzimático. O índice de escurecimento foi calculado utilizando-se a fórmula proposta por Palou et al. (1999).

$$IE = \left(\frac{|100 * (x - 0,31)|}{0,172} \right) \quad \text{Fórmula 1.}$$

$$\text{Onde, } x = \frac{a + 1,75L}{6,645L + a - 3,012b} \quad \text{Fórmula 1.1.}$$

Nos primeiros tempos de centrifugação, de 4 para 6 minutos, observou-se uma redução na retenção da cor verde em repolho minimamente processado, provavelmente devido à quantidade de água no tecido (Figura 1) e, nos dois tempos subsequentes, uma leve tendência de aumento nessa retenção (Hue - Figura 6a), enquanto que nos demais tempos – 12 e 14 minutos – o princípio de desidratação dos tecidos (Figura 1) possivelmente pode ter mascarado a retenção da cor verde.

O índice de escurecimento (IE - Figura 6b) apresenta pequeno de aumento até oito minutos, cai bruscamente em dez e, depois, de queda lenta até 14 minutos de centrifugação. A tendência de aumento no IE, nos primeiros tempos de centrifugação, pode ter ocorrido devido ao excesso de água (Figura 1), mascarando o brilho original do produto minimamente processado. Analisando os valores de L, os quais expressam o brilho (Figura 6c), nota-se uma queda no brilho até oito minutos de centrifugação, permanecendo basicamente constantes nos demais tempos.

VER ÂNGULO HUE: SE ESTÁ NO PRIMEIRO QUADRANTE, A COR DO MATERIAL DEVERIA SER AVERMELHADA/ALARANJADA.

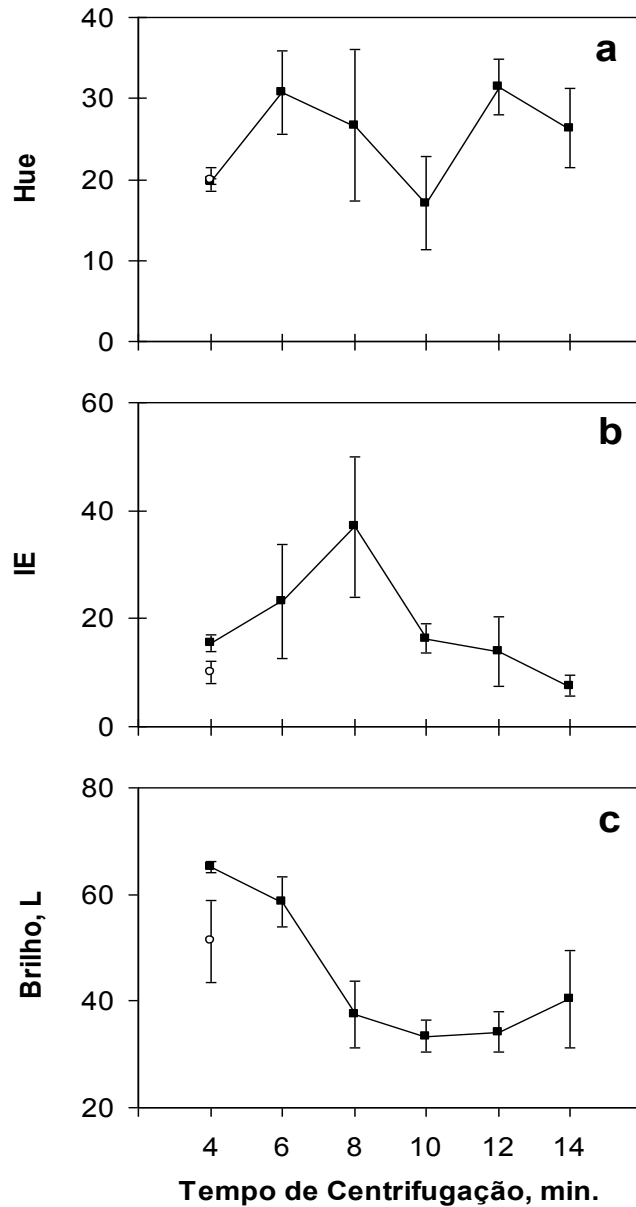


Figura 6. Ângulo Hue (a), índice de escurecimento (b) e brilho (c) de repolho minimamente processado centrifugado por diferentes tempos.

Durante o período de conservação refrigerada do repolho minimamente processado, após a centrifugação e embalagem, observou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para o teor de vitamina C (Figura 7), ocorrendo apenas uma ligeira superioridade das amostras centrifugadas por quatro minutos. Isto ocorreu, provavelmente, devido ao menor estresse inicial, ou seja, menor aquecimento durante a centrifugação (Figura 4), menor taxa respiratória (Figura 5a) e menor produção de etileno (Figura 5b) no repolho minimamente processado centrifugado por

quatro minutos. Mesmo assim, ocorre decréscimo, no teor de vitamina C, para todos os tratamentos após o sexto dia de armazenamento refrigerado.

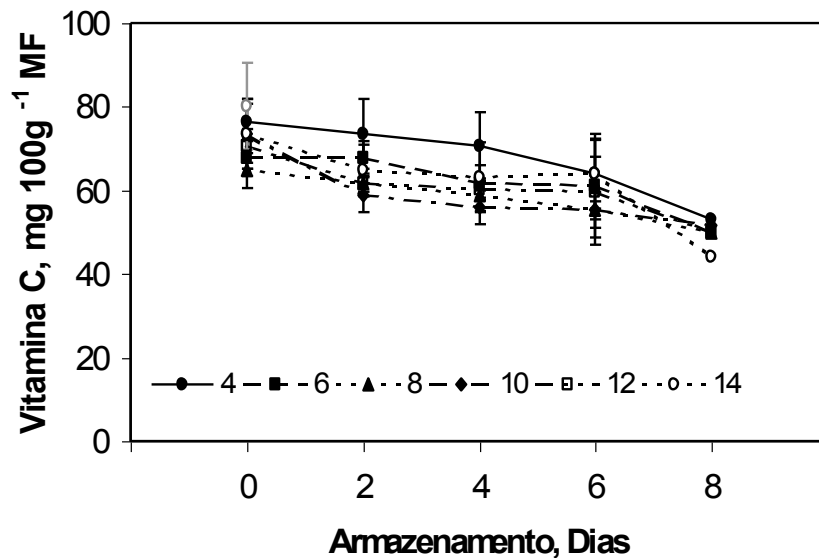


Figura 7. Teores de vitamina C, em repolho minimamente processado, centrifugado por diferentes tempos (MINUTOS) e armazenado, por oito dias, na temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

A análise dos dados, nos leva a sugerir o tempo de 10 minutos como o mais propício para o processamento mínimo de repolho, mesmo ocorrendo um aumento na temperatura do produto de aproximadamente 4°C (Figura 4). Os efeitos desse aquecimento, por sua vez, poderão ser minimizados com o posterior abaixamento da temperatura, como observou-se nos resultados do experimento com armazenamento refrigerado, na temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$, no qual utilizou-se a vitamina C como parâmetro (Figura 7).

Com respeito à centrifugação, preconiza-se que esse processo deve remover, no mínimo, a mesma quantidade de água retida, pelo produto, durante as etapas de sanitização e enxágue; embora admite-se que uma leve desidratação do produto possa favorecer o aumento da vida de prateleira (POR QUE A DESIDRATAÇÃO FAVORECE AUMENTO DA VIDA DE PRATELEIRA?). Na Figura 1, observa-se uma leve desidratação do produto quando esse foi centrifugado por 12 e 14 minutos. No entanto, com base nos teores de vitamina C (Figura 7), ao final do oitavo dia de armazenamento

refrigerado, não verificou-se diferença significativa entre os tratamentos, o que levou-nos a estipular o tempo de 10 minutos de centrifugação nos demais experimentos.

3.4. Escurecimento enzimático

O substrato utilizado para determinar a atividade de PPO, em repolho minimamente processado, foi selecionado utilizando-se diferentes fenóis (Tabela 3).

Tabela 3. Substrato, concentração e atividade de PPO em repolho minimamente processado

SUBSTRATO	CONCENTRAÇÃO (M)	ATIVIDADE (Unidades PPO g ⁻¹ h ⁻¹)
Ácido Clorogênico	0,1	65,00 c
Catecol ¹	0,1	470,64 a
DL - DOPA ²	0,1	205,00 b
Floroglucinol	0,1	21,88 d

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na coluna, não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Scott-Knott. (POR QUE TESTE DE SCOTT-KNOTT, SENDO QUE EMPREGOU TUKEY EM OUTROS TESTES DE MÉDIA??)

¹ 4-metil catecol

² Dehidróxi fenilalanina

Verificou-se maior atividade de PPO quando o catecol (0,1 M) foi utilizado como substrato, no entanto, para os demais substratos, também, observou-se atividade de PPO (Tabela 3). A atividade de PPO foi expressa em Unidades de PPO min⁻¹ mL⁻¹ g⁻¹ MF, sendo uma unidade de PPO definida como 0,001 $\Delta_{A_{425nm}}$ min⁻¹, ou seja, atividade capaz de aumentar linearmente a absorvância (A_{425nm}) em 0,001 unidades por minuto (Almeida e Nogueira, 1989 e Palou et al., 1999). Para tanto, misturou-se numa cubeta (1 cm) 1,3 mL de tampão fosfato (COMO FOI PREPARADO ESTE TAMPÃO??) 0,1 M (pH 6,0), 1,0 mL de substrato e 0,2 mL do extrato enzimático. Em seguida, com o auxílio de um espectrofotômetro (Hewlett Packard), acompanhou-se as variações de absorvância, a 425 nm, por um período de três minutos (Figura 8).

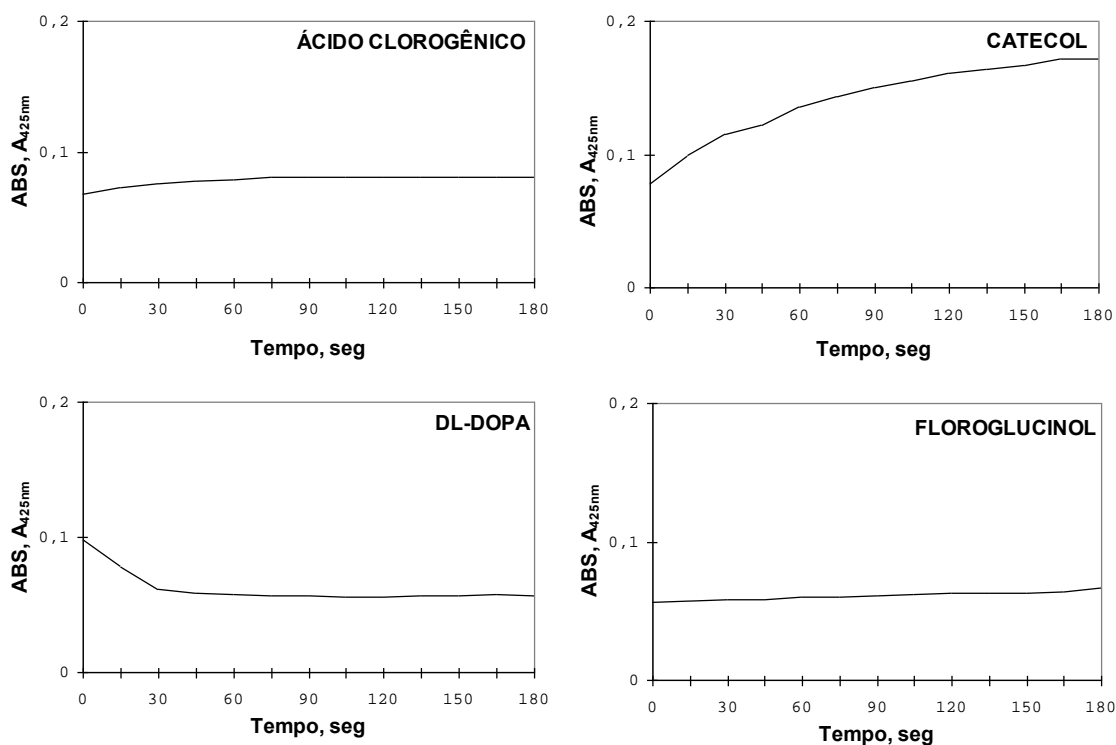


Figura 8. Absorvância de diferentes substratos utilizados para quantificar a atividade da polifenol oxidase (PPO) em repolho minimamente processado.

Com base nos dados, optou-se por utilizar o catecol, na concentração de 0,1 M, como substrato para quantificar a atividade de PPO em repolho minimamente processado.

Os trabalhos, apresentados a seguir, tiveram como objetivo definir as condições do meio de reação da PPO, de modo a evitar interferências do substrato e do extrato enzimático na atividade de PPO extraída de repolho minimamente processado. Para tanto, testou-se a estabilidade do substrato e do extrato enzimático no decorrer do tempo.

A solução utilizada como substrato - Catecol (0,1 M) - inicialmente, no primeiros 30 minutos, apresentou valores crescentes de absorvância a 425nm (A_{425nm}). Após esse período, os valores de A_{425nm} foram reduzindo lentamente com o tempo (Figura 9A). Após 12 horas de preparo (Figura 9B), a solução de catecol se estabilizou, apresentando valores muito baixos de A_{425nm} ($0,002 \pm 0,001$), no entanto, após 24 horas (Figura 9C), os valores de A_{425nm} voltaram a aumentar lentamente ($0,01 \pm 0,001$), provavelmente refletindo os efeitos da oxidação do catecol.

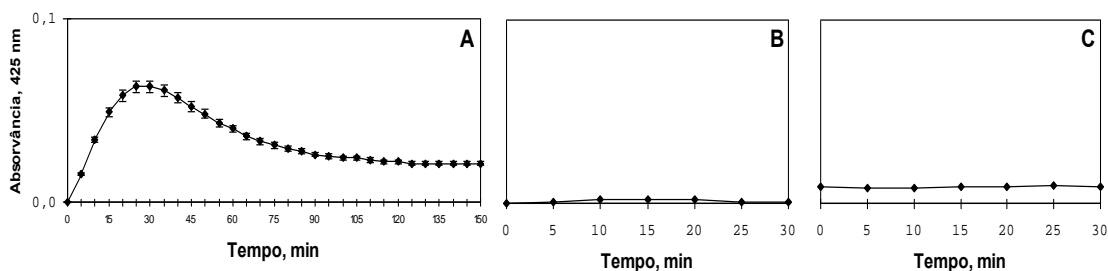


Figura 9. Absorvância a 425 nm (A_{425nm}) para a solução de catecol (0,1 M). **A** - Solução recém preparada; **B** - 12 horas após preparo e **C** - 24 horas após preparo. (POR QUE APÓS 12 HORAS A ABS É QUASE NULA E APÓS 24 HORAS COMEÇA A REGISTRAR-SE ABS NOVAMENTE??)

Nos demais ensaios, nos quais utilizou-se catecol (0,1 M) como substrato para a PPO, as soluções foram preparadas 12 horas antes da sua utilização.

Medindo-se a variação de absorvância a 425 nm (ΔA_{425nm}), em extratos de repolho minimamente processado, verificou-se que a mesma permaneceu estável por um período de uma hora e meia (Figura 10).

Com base nos resultados apresentados, nos ensaios enzimáticos com PPO, as leituras de A_{425nm} das amostras foram realizadas dentro do período máximo de uma hora e meia após a extração.

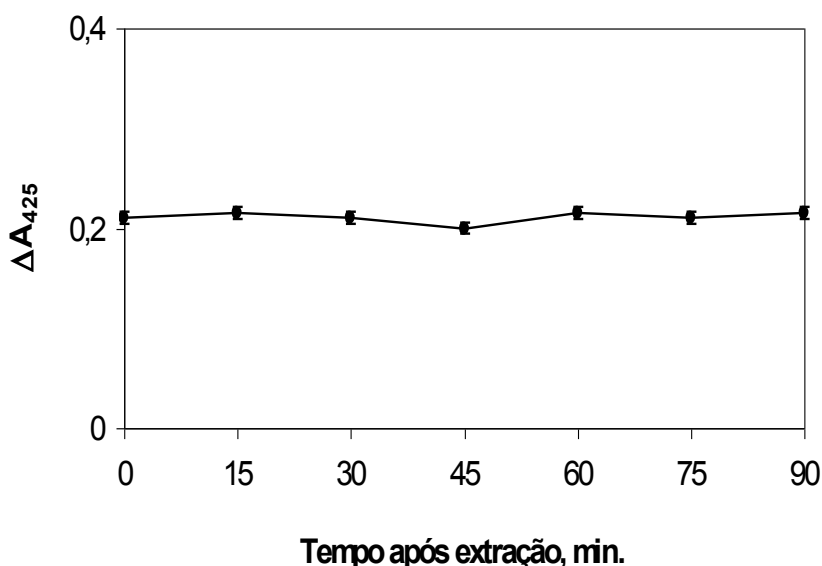


Figura 10. Variação de absorvância, a 425 nm, em extratos de repolho minimamente processado.

POR QUE ADOTOU-SE CONCENTRAÇÃO DE CATECOL A 0,1M? A LEITURA DE ABS PARA ESSA CONCE. FOI PRÓXIMA A 0,2. É INTERESSANTE OBTER-SE LEITURAS MUITO PRÓXIMAS AOS EXTREMOS DA LEI DE LAMBERT-BEER (LINEARIDADE DE 0 A 2?

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material Vegetal

Cabeças de repolho (*Brassica oleracea* L. cv. acephala) (VARIEDADE???????) foram obtidas, durante todo o experimento, por meio de cultivos periódicos na horta da Universidade Federal de Viçosa. Vc mesmo coloca em sua revisão de literatura que “...Muitos fatores podem afetar a intensidade da resposta fisiológica ao processamento mínimo, dentre os quais pode-se destacar a espécie e **VARIEDADE** utilizada, o estágio de maturidade fisiológica...”!!!

4.2. Colheita e pré-processamento

O material vegetal foi colhido entre as 7 e 8 horas da manhã, acondicionado em caixas tipo K (POR QUE USOU CAIXAS K???) HAVIA O INTUITO DE REPRODUZIR O QUE É FEITO NA INDÚSTRIA? e transportado imediatamente para o laboratório, onde foi submetido a resfriamento rápido (terminologia, em português, mais aceita para a tradução de “**pre-cooling**”, segundo o professor Luiz Cortez (FEAGRI – UNICAMP)($6 \pm 1^\circ\text{C}$) por um dia, antes do processamento mínimo.

4.3. Processamento mínimo

O material vegetal, após resfriamento rápido, foi submetido à seleção, lavagem, corte, sanitização, enxágüe, centrifugação, embalagem e armazenamento, como apresentado no fluxograma (Figura 11), sendo cada etapa descrita a seguir.

Seleção e Padronização

Os repolhos foram padronizados quanto ao tamanho e época de plantio, sendo descartados aqueles que apresentaram qualquer defeito aparente ou ataque por patógenos. O ponto de colheita utilizado foi o comercial, ou seja, cabeças completamente formadas e com todas as suas folhas internas imbricadas.

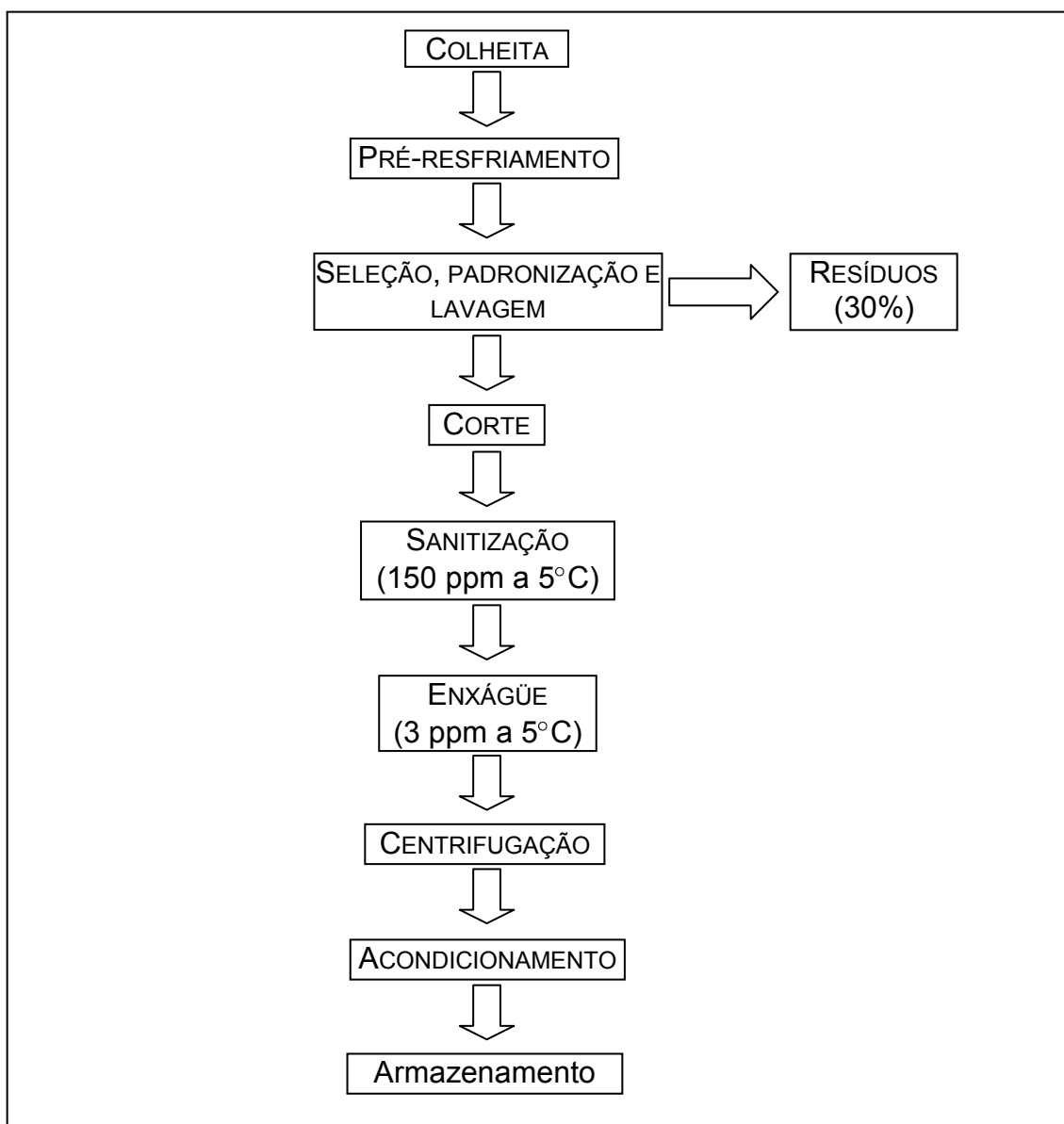


Figura 11. Fluxograma para o processamento mínimo de repolho.

Lavagem

O material vegetal selecionado foi lavado em água corrente para a eliminação de resíduos provenientes do campo.

Corte

As cabeças de repolho foram subdivididas, com o auxílio de uma faca e cortadas na espessura de 1 a 3 mm em um processador de vegetais (Marca Skymsem), previamente esterilizado com solução de hipoclorito de sódio (200 ppm de cloro ativo).

Sanitização e Enxágüe (Trocar ppm por mg.kg⁻¹)

Após o corte, os repolhos cortados foram acondicionados em sacos de nylon e imersos em solução clorada (150 ppm (mg.kg⁻¹) de cloro ativo) e resfriada ($\pm 5^{\circ}\text{C}$), por um período de 10 minutos, após o qual foi enxaguado, em solução clorada (3 ppm de cloro ativo), a 5°C , pelo mesmo período anterior. Utilizou-se como sanitizante o produto comercial Sumaveg (Gessy Lever), que tem como princípio ativo o Dicloro S. Triazinatriona Sódica Dihidratada.

Centrifugação

Após sanitização e enxágüe, fez-se uma centrifugação a 800 *g* (*Curiosidade: como calculou g?*), por 10 minutos, em uma centrífuga doméstica ARNO.

Acondicionamento

As amostras do produto minimamente processado foram, então, acondicionadas em embalagens plásticas e seladas com o auxílio de uma seladora comercial (modelo AP450 da Tec Mac). Em que condições: vácuo, atmosfera normal? Especificar!

Armazenamento

O produto embalado foi armazenado, sob refrigeração, em expositores verticais com circulação de ar forçada (Metalfrio), nas temperaturas de 1, 5 e 10°C . Em vários experimentos, o controle foi armazenado nas bancadas do

laboratório, nas temperaturas de 20 ou 25 ± 2°C, as quais foram conseguidas por meio de condicionadores de ar.

4.4. Taxa respiratória (TR) e evolução de etileno (EE) em repolho intacto e minimamente processado

As avaliações das concentrações de CO₂ e C₂H₄ foram realizadas, por um período de 12 horas, coletando-se alíquotas de 1,0 mL da atmosfera interna de oito frascos plásticos (8,8 L), contendo repolhos inteiros, e oito frascos de vidro (1,2 L) contendo 200g de repolho minimamente processado, hermeticamente fechados, na temperatura de 25 ± 2°C. A homogeneização da atmosfera interna dos frascos, foi obtida com o auxílio de um miniventilador (“cooler”) e alíquotas foram tomadas com auxílio de seringas plásticas descartáveis de 1,0 mL de volume.

A concentração de CO₂, da atmosfera interna dos frascos, foi determinada em cromatógrafo a gás (Shimatsu, modelo GC 14B), equipado com detector de condutividade térmica e coluna empacotada com Porapak-Q (80-100 mesh, 1m de comprimento e 3,2mm de diâmetro interno). Utilizou-se como gás de arraste o nitrogênio (N₂ - 80kPa), com o fluxo de 40 - 45 mL min⁻¹. As temperaturas da coluna, do injetor e do detector foram, respectivamente, 60, 100 e 140°C. A corrente utilizada foi de 85 mA (miliampere), com a atenuação de 1. A quantificação das concentrações de CO₂, dentro dos frascos, foi feita pela comparação do pico produzido pela amostra com aquele produzido pela aplicação de uma alíquota de 1,0 mL de um padrão de 488 ppm de CO₂, sendo a TR estimada, na matéria fresca, em mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, utilizando-se as fórmulas propostas por Kays (1991).

A EE, nos mesmos frascos descritos acima, foi quantificada utilizando-se o mesmo cromatógrafo a gás, agora equipado com um detector de ionização de chama. As temperaturas da coluna, do injetor e do detector foram, respectivamente, 60, 100 e 150°C. A pressão e o fluxo do N₂ (gás de arraste), do ar sintético e do hidrogênio (H₂) foram respectivamente 80 kPa (40 - 45 mL min⁻¹), 30 kPa (30 mL min⁻¹) e 50 kPa (35 mL min⁻¹). A quantificação do C₂H₄ liberado foi feita comparando-se a área do pico da amostra com a área produzida pela aplicação de uma alíquota de 1,0 mL de um padrão com 1,0 ppm de C₂H₄. A EE, na matéria fresca, foi estimada em μL C₂H₄ kg⁻¹ h⁻¹.

4.5. Efeito da temperatura na taxa respiratória (TR) e na evolução de etileno (EE) em repolho minimamente processado

Sistema fechado

Os frascos de vidro (1,2 L), contendo 200g de repolho minimamente processado, foram hermeticamente fechados e armazenados nas temperaturas de 1, 5, 10 e 25°C, por um período de 12 horas (Não entrou em anaerobiose? .

Durante o período de tempo de 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 e 12 horas de armazenamento, coletou-se alíquotas de 1,0 mL, da atmosfera interna dos frascos, para a quantificação da TR e EE, por cromatografia gasosa.

Sistema aberto

Frascos de vidro (1,7 L), contendo 200g de material vegetal, foram cobertos com um filme plástico, com 1% da área perfurada, e armazenados nas temperaturas de 5, 10 e 25°C, um período de 15 dias. Aos 3, 6, 9, 12 e 15 dias de armazenamento, os frascos foram hermeticamente fechados, por um período de 30 minutos. Após esse período, foi realizada a quantificação do CO₂ e do C₂H₄ de modo idêntico ao item 4.4.

Qual a razão de se ter trabalhado com um sistema fechado e outro aberto? Não está claro!

4.6. Efeito do CO₂, do C₂H₄ e do O₂ na taxa respiratória (TR) de repolho minimamente processado

Amostras do produto (200g) foram acondicionadas, por um período de 12 horas, em frascos de vidro (1,2 L), hermeticamente fechados. As tampas dos frascos foram equipadas com um sistema de mangueiras, que permitia a introdução de soluções de KOH 15% ou perclorato de mercúrio, para a retirada do CO₂ ou do C₂H₄, respectivamente, da atmosfera interna dos frascos.

Efeito do CO₂

Na ausência de CO₂, a TR foi estimada com base no decréscimo da concentração interna de O₂, sendo expressa em mg O₂ kg⁻¹ h⁻¹. Às 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após o fechamento dos frascos, coletou-se alíquotas gasosas com o auxílio de seringas plásticas descartáveis com 5,0 mL de volume, sendo a concentração interna de oxigênio ([O₂]_{in}), em porcentagem, determinada num analisador de oxigênio (Marca Mocon).

Efeito do C₂H₄

Na ausência de C₂H₄, a TR foi estimada, por meio de cromatografia gasosa, com base na produção de CO₂.

4.6.3. Efeito do O₂

O efeito do O₂ na TR, foi, inicialmente, acompanhado num sistema fechado, em frascos de vidro (1,2 L) contendo 200g de repolho minimamente processado, até o O₂, na atmosfera interna, atingir níveis próximos de 9%. Utilizou-se esse ponto de referência, levando-se em consideração os níveis internos de CO₂, de tal maneira que esse gás não atingisse concentração capaz de inibir a taxa respiratória.

A hipoxia foi obtida, nos frascos contendo repolho minimamente processado, por meio da passagem de um fluxo de nitrogênio (30 mL min⁻¹ de N₂), durante um período de tempo, o qual foi estimado utilizando-se a fórmula proposta por Leshuk e Saltveit (1990).

$$C = C_0 e^{-\left(\frac{F}{V}\right)t} \quad \text{Fórmula 2}$$

Onde,

C = Concentração de O₂ no tempo t;

C₀ = Concentração inicial de O₂ (i. é. 20,9% O₂);

e = base do logaritmo natural (2,71828...);

F = Fluxo do N₂ em mL min⁻¹;

V = Volume livre do frasco (mL) ;

t = tempo (min).

Como o fluxo de N₂ e o volume livre do frasco foram mantidos constantes, a relação $\frac{F}{V}$ também é constante (k), assim a fórmula 2 passa a ser a seguinte:

$$C = C_0 e^{-kt} \quad \text{Fórmula 3}$$

Os frascos foram hermeticamente fechados, após o fluxo de N₂, e mantidos, na temperatura de 25°C, por um período de 30 minutos, para o acúmulo de CO₂, sendo a análise de CO₂ da atmosfera interna realizada por cromatografia gasosa.

4.7. Efeito da temperatura na modificação da atmosfera em embalagens

plásticas contendo repolho minimamente processado

Escolheu-se uma embalagem plástica comercial, com taxas de permeabilidade (TP) ao gases e ao vapor d'água conhecidas. A embalagem escolhida, por meio de preliminares (dados não mostrados), foi a PD 961 EZ (Cryovac), cujas características estão apresentadas na tabela 4, a seguir. (Sugiro apenas citar as propriedades das embalagens, sem citar o nome comercial do fabricante!)

Embalagens PD 961 EZ, contendo 200g de repolho minimamente processado, foram armazenadas por 15 dias, nas temperaturas de 5, 10 e 25°C, conforme item 4.5.2.

Durante o período de 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias de armazenamento, coletou-se alíquotas da atmosfera interna das embalagens plásticas, para quantificar as concentrações de CO_2 e O_2 da atmosfera interna. Para tanto, instalou-se um tubo de vidro na extremidade da sacola plástica, sendo esse fortemente fixado com arame, cola de silicone e fita plástica adesiva. A este tubo foi fixado uma mangueira de borracha, tendo uma de suas extremidades vedadas com bastão de vidro, conforme Silva (1995). As concentrações de CO_2 e O_2 foram determinadas de acordo com as metodologias apresentadas nos itens 4.4 e 4.6, respectivamente.

Tabela 4. Taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO_2), gás carbônico ($TPCO_2$) e ao vapor d'água (TPH_2O) da embalagem PD 961 EZ (poliolefina multicamada)

EMBALAGEM	PERMEABILIDADE		
	TPO_2	$TPCO_2$	TPH_2O
	cm ³ m ⁻² dia ⁻¹		g m ⁻² dia ⁻¹
PD 961 EZ	6000 - 8000	18000 - 24000	0,90 - 1,10

Simultaneamente, acompanhou-se a TR e a EE do repolho minimamente processado. O material vegetal foi retirado das embalagens plásticas e acondicionado nos frascos de vidro (1,2 L), os quais foram rapidamente fechados hermeticamente, por um período de 30 minutos, para

permitir o acúmulo de CO₂ e C₂H₄ na atmosfera interna dos frascos, sendo a análise dos gases realizada por meio de cromatografia gasosa.

4.8. Efeito da quantidade de repolho minimamente processado na modificação da atmosfera interna das embalagens PD 961 EZ

Amostras de 50, 100, 200 e 300g foram acondicionadas nas embalagens PD 961 EZ, de modo a manter constante as relações entre o volume interno vazio (VIV) e a quantidade de produto (Q), VIV e a área superficial externa (A), como também entre A e Q, conforme mostrado na tabela 5.

Para manter constante tais relações, determinou-se diferentes pontos de selagem para cada tratamento. As embalagens PD 961 EZ possuem as dimensões 18 cm (0,18 m) de largura e 25 cm (0,25 m) de comprimento, totalizando uma área superficial máxima de 900 cm² (0,09 m²), sendo que o ponto de selagem (PS) foi definido como a distância, em cm, a partir da base, onde selou-se as embalagens contendo as diferentes quantidades de repolho minimamente processado.

Durante 0, 1, 3, 5 e 7 dias de armazenamento refrigerado, acompanhou-se as [CO₂]_{in}, [O₂]_{in} e a TR, bem como os sólidos solúveis (°Brix), a vitamina C total, a cor (L, a, b) e a atividade de polifenol oxidase (PPO).

Tabela 5. Quantidades de repolho minimamente processado acondicionado nas embalagens PD 961 EZ, o ponto de selagem (PS), o volume interno vazio (VIV), a área superficial externa (A) e as relações VIV Q⁻¹ e VIV A⁻¹ e A Q⁻¹

QUANTIDADE (g)	P S (cm)	VIV (mL)	A (cm ²)	VIV Q ⁻¹ (mL g ⁻¹)	VIV A ⁻¹ (mL cm ⁻²)	A Q ⁻¹ (cm ² g ⁻¹)
50	3,3	158	117	3,17	1,35	2,34
100	6,5	317	234	3,17	1,35	2,34
200	13,0	633	468	3,17	1,35	2,34
300	19,5	950	702	3,17	1,35	2,34

Sólidos solúveis

O suco celular de 1 g do produto foi obtido com o auxílio de uma prensa mecânica, filtrando-se, simultaneamente, em algodão. Executou-se a

leitura direta com o suco em refratômetro de mesa Abbé, sendo o conteúdo de sólidos solúveis totais expresso em °Brix.

Vitamina C total

Para quantificar os teores de vitamina C total, adaptou-se a metodologia proposta pela AOAC (39.051).

Na solução ao meio de extração de extração: misturou-se 40 mL de ácido acético glacial e 200 mL de água destilada, dissolvendo-se, posteriormente, nessa solução 68,18 mg de ácido metafosfórico (HPO_3); completando-se o volume para 500 mL, filtrando imediatamente, com filtro de papel, para um vidro âmbar com tampa de rosca e armazenado em geladeira, por um período de sete dias.

Solução de DCPIP: dissolveu-se 50 mg de DCPIP em 50 mL de água destilada contendo 42 mg de bicarbonato de sódio (NaHCO_3). Após preparo, a solução foi armazenada em frasco recoberto com papel alumínio, sob refrigeração.

Solução padrão de ácido ascórbico: dissolveu-se 50 mg de ácido ascórbico no meio de extração, completando-se o volume para 50 mL, em balão volumétrico recoberto com papel alumínio. Para a padronização desta solução, transferiu-se 2,0 mL da mesma para um erlenmeyer (50 mL), contendo 5,0 mL da solução de extração, titulando-se imediatamente com DCPIP. Padronizou-se como ponto de viragem, a transformação da coloração roxa, típica do DCPIP oxidado, para uma coloração rósea clara, que persistisse por tempo igual ou superior a cinco segundos.

Extração: com o auxílio de almofariz e pistilo, macerou-se, em nitrogênio líquido, 20 g de repolho minimamente processado. O macerado foi, então, suspenso com a solução de extração, sendo essa suspensão transferida, por meio de filtragem em gaze, para um balão volumétrico de 50 mL e o seu volume completado com solução de extração.

Titulação: transferiu-se 7,0 mL do extrato vegetal, para um erlenmeyer de 50 mL, titulando-se rapidamente com DCPIP até a coloração rósea supramencionada.

Cálculo do teor de vitamina C total: com base na titulação, com DCPIP, da solução padrão de ácido ascórbico, estimou-se os teores de vitamina C total, no material vegetal, em $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ MF.

Cor

As variações de cor, em repolho minimamente processado, foram acompanhadas, durante o período de armazenamento, com o auxílio de um colorímetro triestímulo - L, a, b - da escala Hunter (CTLab*), o qual posiciona a cor num sistema tridimensional, sendo que o eixo a representa a cromaticidade entre as cores verde e vermelha, o eixo b , entre o amarelo e o azul e o L , o brilho.

Determinou-se as variações de cor por meio da transformação dos parâmetros L, a, b em ângulo Hue ($\tan^{-1} b/a$), o qual mede a retenção da cor verde (Barth e Zhuang, 1996) e, também, a taxa de escurecimento ($DE = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2}$), que mede o incremento do escurecimento em repolho minimamente processado com o tempo de armazenamento (Takahasi et al., 1996; Kaji et al., 1993).

Polifenol oxidase (PPO - EC.1.10.3.1)

A atividade da PPO foi determinada adaptando-se a metodologia proposta por Almeida e Nogueira (1989).

Extração da enzima: com o auxílio de almofariz e pistilo, macerou-se, na presença de nitrogênio líquido, 10 g de repolho minimamente processado. O macerado foi ressuspendido em 25 mL de tampão fosfato 0,1M, pH 6,0, filtrado em 4 camadas de gaze e seu volume completado para 50 mL num balão volumétrico. Tomou-se o cuidado de proceder toda a extração na temperatura de 4°C.

Centrifugação: o homogenato foi centrifugado a 25.000 x g , por 20 minutos, na temperatura de 4°C, sendo o sobrenadante utilizado como extrato enzimático.

Meio de reação: adicionou-se numa cubeta (1 cm) 1,3 mL de tampão fosfato, 1,0 mL de catecol 0,1M em tampão fosfato. Para iniciar a reação, adicionou-se à cubeta 0,2 mL do extrato enzimático.

Leitura da absorvância: imediatamente após mistura do meio de

reação, a absorvância das amostras foi lida a 425 nm, com o auxílio de um espectrofotômetro de feixe duplo (Hewlett Packard), a 30°C, sendo o controle uma solução contendo 1,3 mL de tampão fosfato e 1,0 mL de catecol.

Atividade da PPO: A atividade de PPO foi expressa em Unidades de PPO $\text{min}^{-1} \text{ mL}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$, sendo uma unidade de PPO definida como $0,001 \Delta A_{425\text{nm}} \text{ min}^{-1}$, ou seja, atividade capaz de aumentar linearmente a absorvância ($A_{425\text{nm}}$) em 0,001 unidades por minuto (Almeida e Nogueira, 1989 e Palou et al., 1999).

4.9. Conservação de repolho minimamente processado em diferentes embalagens plásticas

Folhas de repolho, após pré-resfriamento e seleção, foram lavadas em água corrente, cortadas (1 – 3 mm) em processador de vegetais, higienizadas (150 mg.kg^{-1} de cloro ativo), enxaguadas (3 ppm de cloro ativo), centrifugadas (800 g por 10 minutos) e embaladas em sacos plásticos transparentes com as dimensões, ponto de selagem e permeabilidade ao oxigênio, gás carbônico e ao vapor d'água apresentados na Tabela 6.

Após selagem das embalagens (Seladora Tec Mac AP 450), contendo 200g cada, o produto foi mantido por sete dias, à temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$, em câmara expositora vertical refrigerada (Metalfrio). Durante 0, 1, 3, 5 e 7 dias de armazenamento, foram retiradas amostras para a análise de perda de massa, dióxido de carbono (CO_2), cor, sólidos-solúveis, clorofila, carotenóides, vitamina C, escurecimento e pH.

Tabela 6. Dimensões, ponto de selagem (PS), taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO_2), ao gás carbônico ($TPCO_2$) e ao vapor d'água (TPH_2O) das embalagens plásticas utilizadas nesse experimento

EMBALAGEM	DIMENSÕES		PS ¹	PERMEABILIDADE		
	L*	C*		TPO_2	$TPCO_2$	TPH_2O
	(cm)					
PEBD ²	14,5	30,5	19	4127	17573	16,4
PEAD ³	15	30	23	3723	13773	8,4
PP ⁴	25	35	23	2400	8400	8-10

¹ Ponto de selagem

² Polietileno de baixa densidade

³ Polietileno de alta densidade

⁴ Polipropileno

- L = largura e C = comprimento das embalagens

Perda de (massa)

A perda de água, do repolho minimamente processado, acondicionado nas diferentes embalagens, foi obtida por gravimetria de três repetições, em balança com sensibilidade de 0,5g. As massas obtidas foram transformadas em valores relativos, ou seja, foram transformadas em porcentagem do valor máximo, considerado 100% no início do armazenamento.

Clorofila e carotenóides

As concentrações de clorofila e carotenóides foram mensuradas, no mesmo extrato vegetal, obtido a partir de 20 g do produto, utilizando-se a metodologia proposta por Lichtenthaler (1987).

Escurecimento e pH

A intensidade do escurecimento, durante o armazenamento refrigerado de repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens, foi determinada tomando-se 10g do produto que foram homogeneizados com 10 mL de água destilada. O homogenato foi filtrado em quatro camadas de gaze e, posteriormente, centrifugado a 25000 g, por 15 minutos. No sobrenadante, mediu-se a absorvância em espectrofotômetro, a 340nm (Couture et al., 1993) e o pH em pHmetro.

Análise sensorial

Durante 0, 1, 3, 5 e 7 dias de armazenamento, foram realizadas análises sensoriais para avaliar a aceitabilidade visual do repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenado por sete dias, na temperatura de 5°C. Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (DTA/UFV), onde os provadores (quantos?), não-treinados, avaliaram as amostras em relação à aparência, usando uma escala hedônica de nove pontos (Figura 1). A aparência das amostras foi avaliada dentro de cabines individuais, com iluminação branca,

sendo as amostras servidas em pratos transparentes descartáveis e codificados com números aleatórios de três dígitos.

4.10. Análise estatística

Todos os experimentos foram delineados inteiramente ao acaso, com três repetições, exceto para cor, onde utilizou-se seis repetições. Após análise de variância, os dados foram expressos como médias e comparadas pelo teste de Tukey ou Scott-Knott (Qual a diferença entre os testes de média?) , a 5% de probabilidade. Para o efeito dos dias de armazenamento, quando possível, utilizou-se análises de regressão para estimar a relação entre os diferentes coeficientes de regressão.

Para a avaliação sensorial, as marcações da escala hedônica foram transformadas em notas e avaliadas por meio de análise de variância e teste de média, conforme supramencionado.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software SAEG 5, da Central de Processamento de Dados da UFV.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Taxa Respiratória (TR) e Evolução de Etileno (EE) de repolho intacto e minimamente processado

No acondicionamento de repolhos intactos, sob sistema fechado, observou-se que a concentração interna de CO_2 ($[\text{CO}_2]_{\text{in}}$) aumentou rapidamente num período de duas horas após a colheita, coincidindo com o aumento na concentração interna de etileno ($[\text{C}_2\text{H}_4]_{\text{in}}$) (Figura 12a). Esse rápido aumento, tanto na $[\text{CO}_2]_{\text{in}}$ como na $[\text{C}_2\text{H}_4]_{\text{in}}$, refletem a ascensão da taxa respiratória (TR) e da evolução de etileno (EE) decorrentes da colheita (Figura 12b), representando o esforço dos organismos vivos em manter o equilíbrio energético, desestabilizado pela colheita (Rolle e Chism, 1987, Watada et al., 1990), bem como gerar compostos específicos para a cicatrização das áreas danificadas no processo de colheita (Kays, 1991) Parágrafo muito longo. Reestruturar!. Nessa ascensão metabólica, observa-se tanto a rapidez de reposta do vegetal como a coincidência da TR com a EE (Figura 11a), levando-nos a sugerir que esse aumento, imediatamente após a colheita, possa ter ocorrido por meio da ativação dos genes, que codificam para as enzimas que catalisam a produção de C_2H_4 (Abeles et al., 1992).

O repolho intacto apresentou outro pico de EE, aproximadamente três horas após o primeiro pico (Figura 12b), levando-nos a sugerir que esse segundo possa ser, provavelmente, uma produção autocatalítica estimulada pelo etileno produzido anteriormente, a qual apresenta como característica um pico na EE precedendo o aumento na TR (Abeles et al., 1992), como pode ser verificado na Figura 12b. A fase latente, entre os picos, foi provavelmente o

período de tempo necessário para que ocorresse a percepção do sinal e a consequente regulação genética da resposta ao etileno, conforme a rota apresentada por Chang e Shockey (1999). Essa fase latente, pode ser rápida ou lenta, dependendo do produto (Abeles et al., 1992).

Análises de curvas de resposta ao etileno, têm mostrado que a concentração desse hormônio necessária para a maioria dos efeitos fisiológicos, em plantas, está entre 0,1 e 1,0 $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar, mostrando que no caso do repolho, recém colhido, a EE inicial liberou, na atmosfera interna do frasco, quantidade suficiente de etileno (Figura 12a) para induzir a produção de mais etileno, aumentando também a TR (Figura 12b). A curva de EE, apresenta o comportamento clássico, para órgãos vegetais destacados, ou seja, uma produção inicial em resposta ao estresse e outra, posterior, em função do próprio etileno que foi liberado na atmosfera, sendo essa última considerada a ascensão de C_2H_4 responsável por acelerar a senescência dos tecidos (Abeles et al., 1992) Muito bom!!!.

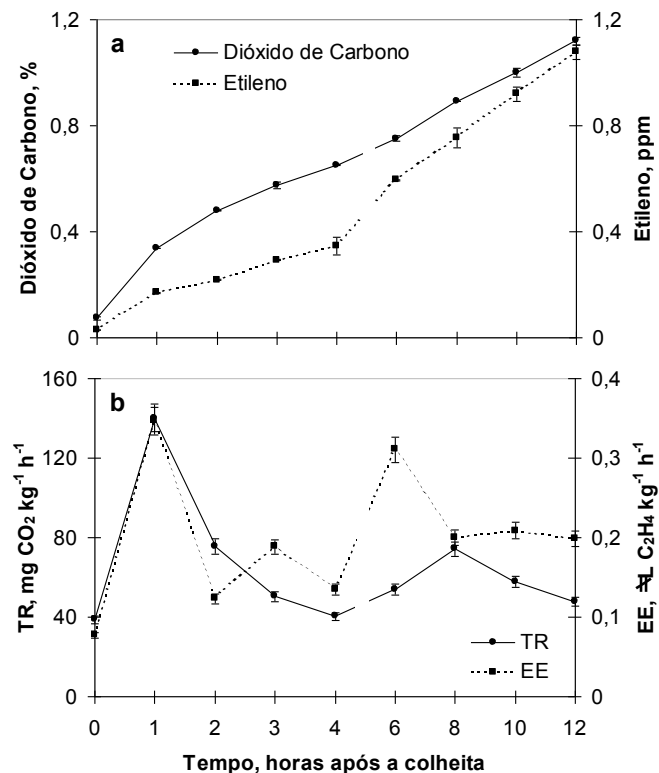


Figura 12. Concentração de dióxido de carbono (CO_2) e etileno (C_2H_4) - **a** - e Taxa respiratória (TR) e evolução de etileno (EE) - **b** - em repolho intacto, mantido a 25°C , num sistema fechado. As curvas nas figuras poderiam ser um pouco mais grossas, para facilitar a vida do leitor.

Por outro lado, não se acredita que os níveis de CO₂ alcançados (1,3 %CO₂), na atmosfera interna dos frascos, nesse sistema fechado, tenham sido elevados o suficiente para inibir a TR, como também a biossíntese autocatalítica e a ação do etileno, como preconizado por Abeles et al.(1991) e Wills et al. (1981).

Após o processamento mínimo, a TR do produto intacto (aproximadamente 20 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) aumentou em torno de sete vezes a que temperatura???, para cerca de 140 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Figura 13b). Aumentos de três vezes na TR de repolho minimamente processado, em relação ao intacto, também foram observados por Cantwell (1992), sob condições experimentais a 25°C.

Esse aumento na TR ocorreu, provavelmente, pelo rompimento físico das células que margeiam o corte e, ou, pela desestruturação dos sistemas de membranas celulares (Mazliak, 1983), causado pela degradação enzimática dos componentes da membrana (Galliard et al., 1976). A deacilação dos lipídeos da membrana resulta na liberação de ácidos graxos livres (Watada et al., 1990), os quais podem ser degradados enzimaticamente a hidroperóxidos pelas lipoxigenases (Mazliak, 1983), sendo esses hidroperóxidos altamente citotóxicos, principalmente, para as membranas (Watada et al., 1990). Esse processo ainda pode gerar radicais livres que, ao se ligarem principalmente com as proteínas do tonoplasto, podem provocar vazamentos de ácidos orgânicos e enzimas hidrolíticas, conseqüentemente, aumentando o dano (Rolle e Chism, 1987). A desestruturação dos sistemas de membranas celulares resulta na quebra das barreiras à difusão dos gases, facilitando as trocas gasosas e permitindo, ao mesmo tempo, que as enzimas e substratos entrem em contato, acelerando o processo respiratório. Este aumento pode ser devido a desinibição da cadeia de transporte de elétrons e a aceleração do ciclo dos ácidos tricarbóxicos e glicólise (Rolle e Chism, 1987; Sakr et al., 1997).

A EE (Figura 13b), em repolho minimamente processado, aumenta linearmente até uma hora após o corte, atingindo a produção máxima de aproximadamente 2,0 µL C₂H₄ kg⁻¹ h⁻¹, permanecendo nesse patamar máximo até duas horas após o corte. Esse aumento inicial na EE, diferentemente do

repolho intacto (Figura 12b), não coincidiu com a curva da TR (Figura 13b). Isso ocorreu, provavelmente, depois do processo de desestruturação do sistema de membranas, uma vez que a descompartimentação celular coloca em contato as enzimas e substratos do sistema gerador de etileno (Mazliak, 1983) e, também, facilita a liberação do mesmo para o ambiente (Yu e Yang, 1980), sendo que esse etileno, agora exógeno, estimula a síntese de ACC (escrever por extenso aqui!!) oxidase (EFE - enzima formadora de etileno) antes da síntese de ACC sintase (Yang, 1985).

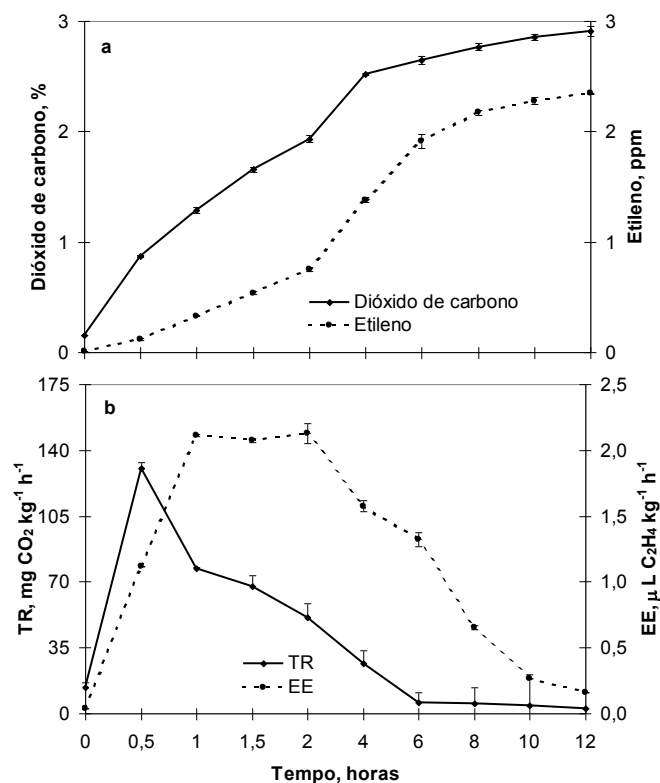


Figura 13. Efeito do processamento mínimo do repolho sobre a concentração de dióxido de carbono (CO₂) e etileno (C₂H₄) - **a** - e taxa respiratória (TR) e evolução de etileno (EE) - **b** - na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, num sistema fechado.

Por outro lado, em tecidos cortados observou-se tanto o aumento da atividade da ACC sintase (Yu e Yang, 1980), bem como a síntese *de novo* de ACC sintase (Hyodo et al., 1985), sendo que em ambos os casos ocorre o acúmulo de ACC (ácido 1-aminociclopropano carboxílico), que é o início da produção de etileno devido ao estresse (Yu e Yang, 1979).

Após o aumento inicial, a EE (Figura 13b) continua alta por um período

de uma hora, provavelmente, refletindo esses efeitos associados e a posterior queda, pode ter ocorrido pelo esgotamento de um dos componentes do sistema gerador de etileno (Abeles et al., 1992) ou pelo efeito inibidor do acúmulo de CO₂ (Figura 13a), o qual na concentração atingida (próximo a 2,6%) pode inibir tanto a síntese como a ação do etileno em repolho minimamente processado (Moleyar e Narasimham, 1994) Frase muito longa de difícil interpretação. Reestruturar!! É possível, também, que a escassez de O₂, seis horas após o corte, tenha reduzido a biossíntese de C₂H₄, uma vez que o O₂ é um dos substratos da ACC oxidase e fundamental para a ação desse hormônio (Burg e Burg, 1967).

A queda drástica na TR (Figura 13b), após o pico inicial (0,5 a 1,0 hora), provavelmente ocorreu devido à restauração parcial do sistema de membranas e, ou, pela regeneração de grande quantidade de ATP (Rolle e Chism, 1987). Seguindo-se a queda drástica, ocorre uma queda mais lenta, entre uma e seis horas após o corte (Figura 13b), sendo essa relacionada com a queda na EE (Figura 13b), pois acredita-se que a medida que a EE vai abaixando, reduz-se o seus efeitos na TR, principalmente na oxidase alternativa, fazendo com que ocorra a redução lenta na TR. Como para a EE, quatro horas após o corte, a concentração de CO₂ no sistema fechado, na faixa de 2,6% (Figura 12b) e a redução nos níveis de O₂ (dados não mostrados), possivelmente agiram, em conjunto, para inibir também a TR em repolho minimamente processado.

5.2. Efeito da temperatura sobre a taxa respiratória e evolução de etileno em repolho minimamente processado

5.2.1. Sistema fechado

Isto é revisão de literatura. Já foi falado/escrito !!Observou-se que, logo após o processamento mínimo, o aumento de temperatura de 1 para 25°C no sistema fechado, aumentou significativamente ($p < 0,01$) a TR (Figura 14b) e a EE (Figura 15b). Nesse pico respiratório, meia hora após o corte, a TR, a 1°C, apresentava valores próximos a 40 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, enquanto que a 25°C, 130 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, ou seja, a elevação de temperatura acelerou o processo respiratório em aproximadamente 3, vezes. Cantwell (1992) observou que a TR_{10°C} (TR a 10°C) do repolho minimamente processado foi de 58,82 mg

$\text{CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, cerca de 2,35 vezes maior que a $\text{TR}_{2,5^\circ\text{C}}$ ($25,10 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), apresentando um Q_{10} de 3,11. Nesse caso, apresentado por Cantwell (1992), o aumento de $7,5^\circ\text{C}$, na temperatura, acarretou um aumento de 311% na TR. Em alface minimamente processada, Watada et al., (1996) observaram que a $\text{TR}_{10^\circ\text{C}}$ foi de $16 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ e a $\text{TR}_{2,5^\circ\text{C}}$ de $7,5 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, apresentando um aumento de 2,13 vezes na TR e um Q_{10} de 2,68.

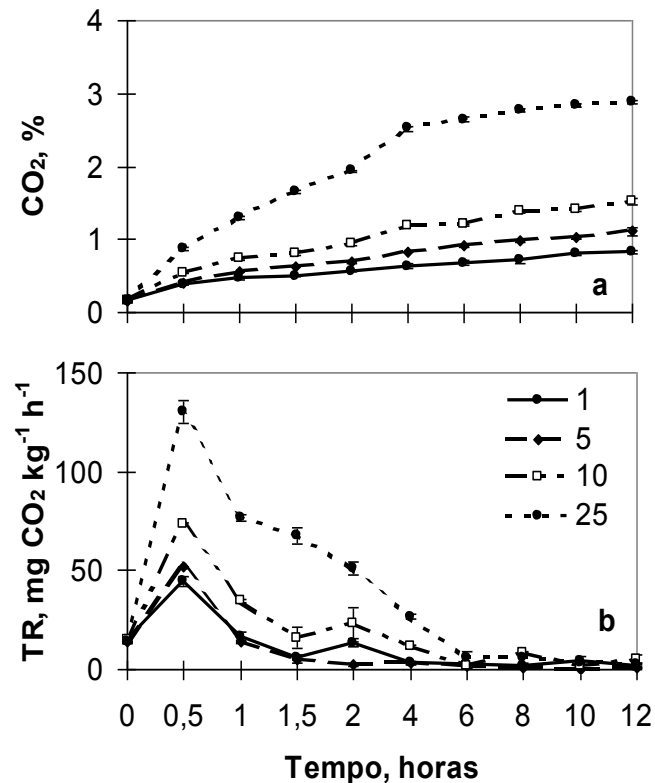


Figura 14. Concentração de CO_2 - **a** – e Taxa respiratória (TR) - **b** - de repolho minimamente processado, acondicionado num sistema fechado e mantido em diferentes temperaturas ($^\circ\text{C}$), por 12 horas.

Os valores de Q_{10} , no pico respiratório após o processamento mínimo, apresentados na Tabela 7, representam a variação na TR quando a temperatura de armazenamento é abaixada de 25 para 10°C (25_{10}), de 10 para 5°C (10_5) e, finalmente, de 5 para 1°C (5_1).

Tabela 7. Valores de Q_{10} , para a TR de repolho minimamente processado, mantido em sistema fechado por 12 horas, em diferentes temperaturas ($^\circ\text{C}$).

Δ Temperatura	Q ₁₀
5_1	0,5
10_5	13,0
25_10	2,2

Observa-se, pela Tabela 7, que o abaixamento da temperatura de 25 para 10°C, reduz a TR aproximadamente pela metade, enquanto que de 10 para 5°C, reduz a TR em torno de 13 vezes, sendo que a posterior redução na temperatura de **5 para 1°C, não apresenta efeito significativo na TR do repolho minimamente processado (resultado de grande relevância tecnológica!!)**. O Q₁₀, na faixa de temperatura de 0 a 10°C, pode variar de 2 até 9 ou mais, dependendo do produto (Watada et al., 1996; Schlimme, 1995), indicando que o armazenamento em baixas temperaturas, para produtos não sensíveis à injúria por frio, é uma técnica eficiente para reduzir o metabolismo do vegetal e com isso aumentar a vida de prateleira dos produtos minimamente processados.

As variações na TR, em função da temperatura, podem ser descritas pelo modelo clássico de Arrhenius (McLaughlin e O'Beirne, 1999, Exama et al., 1993), utilizando-se apenas a produção de CO₂ para caracterizar o processo respiratório (R_{CO₂}), como descrito a seguir:

$$R_{CO_2} = R_{CO_2}^0 \exp\left(-\frac{E_{CO_2}^R}{RT}\right) \quad \text{Fórmula 4}$$

Onde,

R_{CO₂} é a TR na temperatura T, em mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹;

R_{CO₂}⁰ é a TR inicial, na temperatura T, em mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹;

E_{CO₂}^R é a energia de ativação do CO₂ na respiração, em J mol⁻¹;

R é a constante dos gases perfeitos, em J mol⁻¹ K⁻¹ e

T é a temperatura, em K.

Observa-se que, a medida que a temperatura aumenta a energia de ativação do CO₂, na respiração, diminui de forma significativa (p<0,01), ou seja, a barreira energética para liberar o CO₂ é menor e, com isso, a respiração ocorre com maior intensidade (Tabela 8).

Tabela 8. Valores calculados da energia de ativação do CO₂ na respiração ($E_{CO_2}^R$), de repolho minimamente processado, armazenados, num sistema fechado, por 12 horas, em diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	$E_{CO_2}^R$ (J mol ⁻¹)
1	44,02 a
5	38,53 a
10	27,41 b
25	16,20 c

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na coluna, não diferem significativamente ($p>0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

Relacionando-se o Q_{10} (Tabela 7) com a $E_{CO_2}^R$ (Tabela 8), como proposto por Cameron et al. (1995), nota-se que a medida que o Q_{10} aumenta a $E_{CO_2}^R$ também aumenta, levando-nos a concluir, , que o abaixamento da temperatura é uma das técnicas essenciais para reduzir o metabolismo de repolho minimamente processado, utilizando-se a TR como indicativo do metabolismo (Kays, 1991).

A EE (Figura 15b), em repolho minimamente processado apresentou comportamento geral (o que é isso???) em função da temperatura. A elevação de temperatura de 1 para 25°C, aumentou a EE em aproximadamente 3,6 vezes, passando de 0,31 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (1°C) para 1,12 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (25°C). Tal fato ocorreu apenas meia-hora após a aplicação de diferentes temperaturas, levando-nos a sugerir que o processo de adaptação à diferentes temperaturas é muito rápido. No pico de EE, nota-se que a diferença foi bem maior, em torno de 4,59 vezes, passando de 0,46 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (1°C) para 2,11 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (25°C) (Figura 15b). Os efeitos da temperatura, na EE, podem ser melhor visualizados por meio do acúmulo de C₂H₄ nos frascos, mantidos em sistema fechado (Figura 15a).

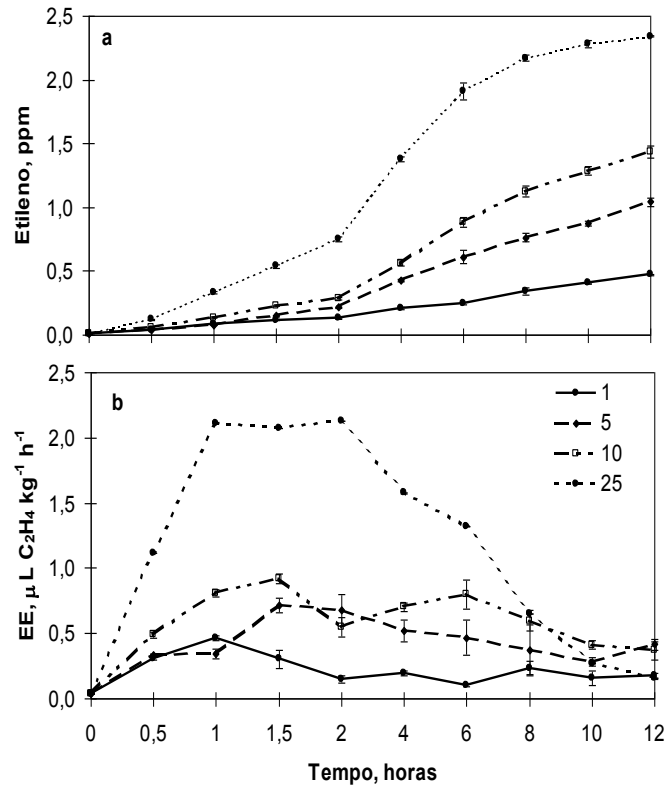


Figura 15. Concentração de C₂H₄ - **a** - e Evolução de etileno (EE) - **b** - de repolho minimamente processado e acondicionado num sistema fechado mantido em diferentes temperaturas (°C), por 12 horas. As legendas prejudicam o entendimento da figura. O leitor tem que fazer grande esforço para discernir entre as curvas.

Na temperatura de 25°C, observa-se maior concentração interna de etileno ([C₂H₄]_{in}), já no início, meia-hora depois da aplicação das diferentes temperaturas, chegando ao final das 12 horas, a quase 2,0 mg.kg⁻¹ de C₂H₄; enquanto que nas demais temperaturas, as diferenças na [C₂H₄]_{in}, começam a serem evidenciadas, somente, duas horas depois (Figura 15a), levando-nos a sugerir que a temperatura acelerou os processos metabólicos, principalmente a atividade enzimática. Por outro lado, a ocorrência de mudanças na configuração das membranas celulares, em função da temperatura, como proposto por Lyons (1973), com o aumento na insaturação dos ácidos graxos, na faixa de transição de temperatura (4 a 10°C) (Couey, 1982, Markhart III, 1986), aumentando a permeabilidade das membranas, pode também aumentar a EE e, por conseguinte, a concentração interna de etileno no sistema fechado.

Após o pico inicial na TR, observa-se uma queda drástica, após meia hora e depois uma mais lenta (Figura 14b). No repolho minimamente processado, mantido a 25°C (Figura 14b), a redução na TR demora em torno de seis horas, enquanto que nas demais temperaturas, a redução ocorre em torno de duas horas (Figura 13a). Embora não haja diferença significativa ($p>0,05$) nas TR's, a 5 e 1°C em todo o período, após seis horas, no sistema fechado, não há diferença significativa ($p>0,05$) entre as TR's, nas diferentes temperaturas (Figura 14b). Após seis horas de armazenamento a 25°C, observou-se um acúmulo de etanol na atmosfera interna do sistema fechado (dados não mostrados), o qual pode ter mascarado o efeito da temperatura na redução da TR, pois na cromatografia gasosa o etanol apresenta tempo de retenção muito próximo do CO₂, havendo nesses casos sobreposição dos picos no cromatograma. O acúmulo de CO₂, em torno de 2,8% (Figura 14a), e a escassez de O₂ (dados não mostrados), após seis horas no sistema fechado, possivelmente também influenciaram nessa redução.

A EE permaneceu basicamente estável, em todo o período, nas temperaturas de 10, 5 e 1°C, apresentando nessas temperaturas níveis bem inferiores de C₂H₄ quando comparados com a EE a 25°C (Figura 15b), corroborando com a proposta de que o abaixamento da temperatura é eficiente em reduzir também a EE, prolongando assim a vida útil do produto.

5.2.2. Sistema aberto

No sistema aberto, a TR do repolho minimamente processado, em todas as temperaturas, abaixou até o sexto dia (Figura 16a). As curvas da TR *versus* tempo apresentaram comportamento clássico para órgãos vegetais destacados, ou seja, um decréscimo inicial, seguido de um período estável e posterior aumento, coincidindo com o início da senescência. No entanto, a 25°C, o repolho minimamente processado já estava completamente deteriorado no sexto dia, enquanto que para as demais temperaturas, a perda comercial do produto ocorreu após o décimo quinto dia de armazenamento. Como sabe que perdeu valor comercial? Qual o parâmetro empregado para avaliar?. O abaixamento da temperatura, de 10 para 5°C, reduziu significativamente ($p<0,05$) a TR (Figura 16a), apresentando um Q₁₀ de 1,56 em todo o período, ou seja, embora as TR's, nas duas temperaturas, pareçam

muito próximas, a 10°C ocorreu um aumento de 56% na TR do repolho minimamente processado.

À temperatura de 5°C, a EE aumentou até o nono dia. A 10°C, não foi detectado aumento na produção de etileno e a 25°C, ocorreu aumento na EE até o terceiro (Figura 16b). A 5°C, o aumento na EE até o nono dia, nos leva a sugerir que, esse aumento, possa ser uma resposta ao estresse causado pela baixa temperatura. O produto minimamente processado poderia então ser suscetível à injúria pelo frio?? O repolho pertence à família das brássicas, podendo ser armazenado a temperaturas próximas a 0°C. Como então vc explica que o produto minimamente processado seja suscetível à injúria por frio se o intacto não é?? Abaixo de 12,5°C, segundo Couey (1982), a maioria dos vegetais sofrem algum tipo de injúria fisiológica, sendo que nas temperaturas da faixa de transição (4 a 8°C), pode ocorrer uma maior insaturação dos ácidos graxos (Markhart III, 1986) como, também, a peroxidação dos lipídeos (Wise e Naylor, 1987) constituintes das membranas celulares, as quais podem sofrer mudanças conformacionais, passando do estado líquido-cristalino para gélsólido (Lyons, 1973). Tais mudanças, aumentam a permeabilidade das membranas e, também, a capacidade do tecido em sintetizar ACC (Rolle e Chism, 1987). No entanto, sob baixas temperaturas, o incremento na EE (Figura 16b) não induziu o aumento da TR (Figura 16a). A 10°C, a EE *versus* tempo (Figura 16b) seguiu o mesmo comportamento da TR (Figura 16a) e ao final do período de armazenamento, permaneceu estável.

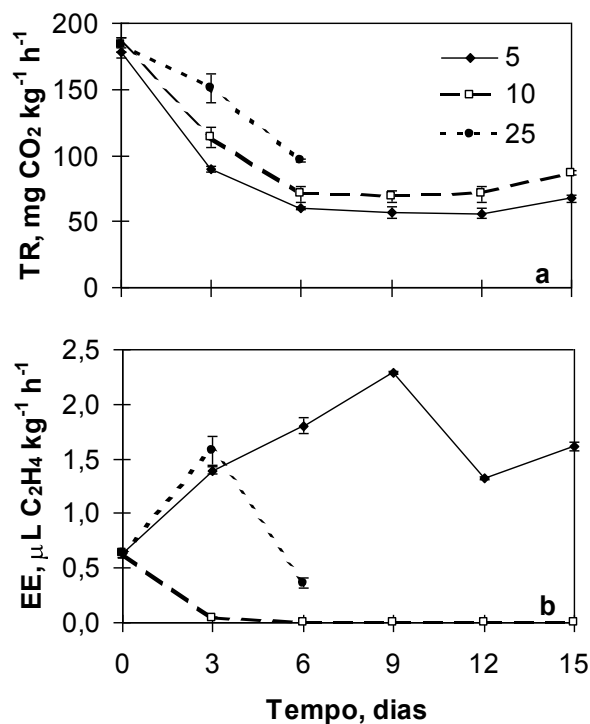


Figura 16. Taxa respiratória (TR) - **a** - e evolução de etileno (EE) - **b** - em repolho minimamente processado, mantido num sistema aberto por 15 dias, em diferentes temperaturas.

Cantwell (1992), trabalhando com repolho minimamente processado, também observou que a TR aumentava com o incremento da temperatura, de 5 para 10°C, apresentando um Q_{10} de aproximadamente 8,34, isto é, o aumento de 5°C, na temperatura, aumentou o metabolismo respiratório em 734%, possivelmente acelerando o processo catabólico e, conseqüentemente, reduzindo a vida pós-colheita. O mesmo foi observado em tomates (Artés et al., 1999), cuja TR a 10°C, foi de 5,28 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ e a 2°C, 3,04 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, apresentando um Q_{10} de 1,99. Esse comportamento da TR, em função da temperatura, é clássico para órgãos vegetais destacados e, posteriormente, armazenados em temperaturas crescentes, como foi mostrado para vários vegetais por Watada et al. (1996). O aumento na TR, pode levar ainda à perda de qualidade nutricional, como pode ser verificado pelo conteúdo de vitamina C, de vários vegetais armazenados em diferentes temperaturas (Favell, 1998).

5.3. Efeito do CO₂, O₂ (PCA) O que é isso??? e C₂H₄ na TR de repolho minimamente processado e acondicionado em sistema fechado

5.3.1. Efeito do CO₂

O acúmulo de CO₂, no sistema fechado, reduziu significativamente a TR, de repolho minimamente processado, até oito horas depois de processado (Figura 17a). O aumento da concentração de CO₂, na atmosfera interna dos frascos, reduz a TR. No entanto, o mecanismo de ação é ainda desconhecido, podendo estar associado com a inibição de várias enzimas do ciclo de Krebs (Kader, 1986) ou com o desacoplamento da cadeia de transporte de elétrons (Kays, 1991).

Na ausência de CO₂, observa-se queda acentuada da TR, também, após oito horas de armazenamento (Figura 17a), no entanto, nesse caso, isso ocorreu, provavelmente, devido à escassez de O₂ (Figura 17b), uma vez que após oito horas, a atmosfera interna dos frascos apresentava níveis de O₂ inferiores a 3,5%, sendo a faixa ótima, para o armazenamento de repolho, está entre 2 e 5% de O₂ (Exama et al., 1993, Kader et al., 1989). A queda na TR, em níveis de O₂ abaixo de 5%, coincidem com a faixa proposta por Exama et al. (1993), pois ao reduzir ainda mais a concentração de O₂, de 3,5% para 1,9%, após 10 horas no sistema fechado (Figura 17b), observa-se que a TR foi altamente reduzida, possivelmente como resultado da redução do metabolismo (Figura 17a). Após 12 horas, a concentração de O₂ foi de 0,5% e a TR de 17 mg O₂ kg⁻¹ h⁻¹, não apresentando ainda indicativos (Quais indicativos??) de respiração anaeróbica, embora Exama et al. (1993) sugira que abaixo de 2% de O₂ possa ocorrer respiração anaeróbica em repolho intacto.

O que vc pensaria sobre a tensão necessária de O₂ para ocorrer respiração anaeróbica em repolho minimamente processado? Seria maior ou menor do que a tensão para o produto intacto?

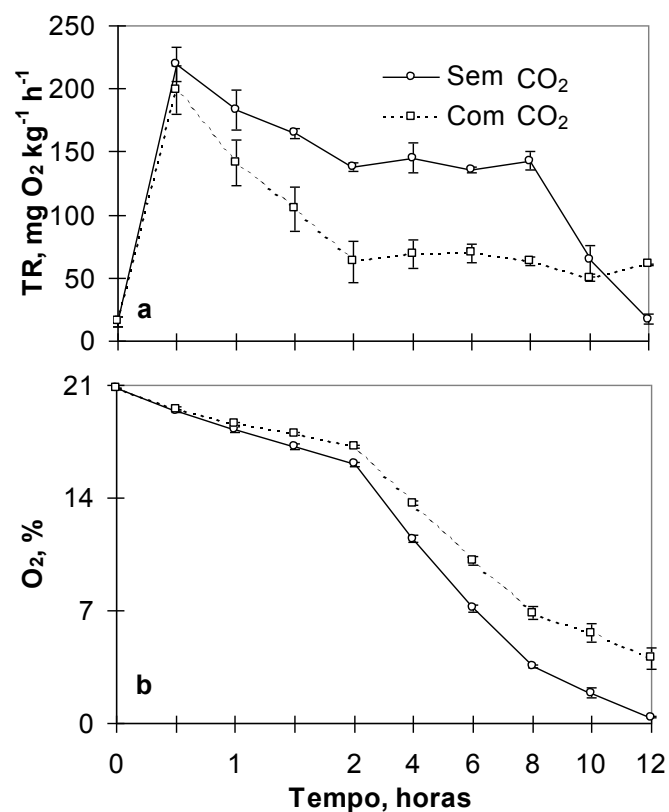


Figura 17. Efeito da presença e ausência de CO₂ na taxa respiratória (TR) - **a** - e consumo de O₂ - **b** - de repolho minimamente processado, armazenado por 12 horas num sistema fechado.

Os dados observados, nos levam a sugerir que o armazenamento refrigerado de repolho minimamente processado em atmosfera modificada, de tal forma que permita o acúmulo de CO₂ (Figura 17a) e o abaixamento nos níveis de O₂, pode ser um método efetivo em reduzir o metabolismo do produto e, conseqüentemente, aumentar a vida de prateleira, desde que nem os níveis atingidos pelo CO₂ e nem a escassez de O₂ sejam prejudiciais. Será que é fácil conseguir isso???

No entanto, antes de se definir qual a embalagem plástica adequada para essa atmosfera modificada, torna-se imprescindível determinar o ponto de compensação anaeróbico (PCA), do repolho minimamente processado, sendo esse ponto definido como a concentração de O₂ para a qual a produção de CO₂ é mínima (Boersig et al., 1988).

5.3.2. Efeito do O₂

O ponto de compensação anaeróbico (PCA) do repolho minimamente

processado foi estimado empiricamente utilizando-se, inicialmente, um sistema fechado e, posteriormente, para obter-se níveis muito baixos de O₂, um sistema com fluxo de gases. Nesse último, as concentrações de O₂, em níveis abaixo de 6%, foram obtidas por meio de um fluxo de N₂ (30 mL min⁻¹), no interior dos frascos, por um período de tempo calculado pela fórmula 4 (Material e Métodos). Os tempos necessários para obter-se os baixos níveis de O₂ desejados, por meio do fluxo de N₂ na atmosfera interna dos frascos de vidro (1200mL), contendo 200g de repolho minimamente processado, estão apresentados na Tabela 9. As concentrações de O₂ foram confirmadas (Tabela 9) com o auxílio de um Mocon, conforme item 4.6 do Material e Métodos.

Tabela 9. Concentração de O₂ (calculada e medida) na atmosfera interna dos frascos, após o fluxo de N₂ (30 mL min⁻¹) durante o período de tempo estipulado

O ₂ CALCULADO (%)	TEMPO (min)	O ₂ MEDIDO (%)
6	2	6,28
3	4	3,14
0,44	30	0,32

A TR, do repolho minimamente processado, a 6% de O₂, foi de 2,97 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ e, a 3% de O₂, 2,54 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Figura 18), notando-se que, nessa faixa de concentração de O₂, a TR permaneceu estável. A 2%, a TR foi de 3,23 e a 1% de O₂, de 7,62 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, apresentando, possivelmente, os primeiros indicativos de respiração anaeróbica (Detalhe na Figura 18). Reduzindo-se ainda mais a concentração de O₂, para níveis próximos de zero (0,32% O₂), a produção de CO₂, pelo repolho minimamente processado, aumentou muito, passando a 138 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Figura 18).

Abaixo do PCA, a maioria dos vegetais desvia o processo respiratório de aeróbico para anaeróbico (Kato-Noguchi e Watada, 1996a). Sob baixos níveis de O₂, Kato-Noguchi e Watada (1996b) observaram, em cenouras minimamente processadas, aumento na síntese e o acúmulo de frutose-2,6-bisfosfato (Fru-2,6-P₂), que na presença de um suprimento adequado de PPI, ativava a enzima fosfofrutocinase dependente de pirofosfato (PPI-PFK), no

sentido da glicólise, aumentando, por último, a produção de frutose-1,6-bisfosfato (Fru-1,6-P₂), o qual acelerava ainda mais a glicólise e a produção de etanol.

Nessas condições, o ciclo de Krebs paralisa e os tecidos, então, tornam-se dependentes da glicólise para o suprimento de ATP (Watada e Qi, 1999), ou seja, o aumento da glicólise pode ser um mecanismo, pelo menos em cenoura minimamente processada, para manter o suprimento de energia, quando a energia proveniente do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa tornam-se limitadas (Watada et al., 1996).

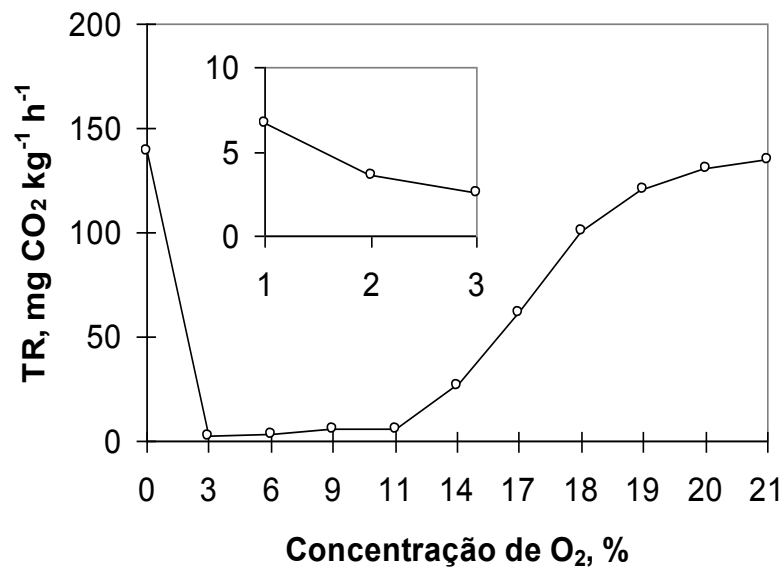


Figura 18. Taxa respiratória (TR), de repolho minimamente processado, em diferentes concentrações de O₂.

Acredita-se, pela análise dos dados, que o PCA, para repolho minimamente processado, situa-se abaixo de 1% e próximo a 0,32% de O₂ (Figura 18). Os valores de PCA obtidos, para repolho minimamente processado, assemelham-se aos valores de 0,25% de O₂ encontrados para os floretes de brócoli (Izumi et al. 1996) e de 0,2% de O₂ para o espinafre minimamente processado (Ko et al., 1996).

5.3.3. Efeito do C₂H₄

A presença do C₂H₄, no sistema fechado, aumentou a TR somente na

primeira hora após o processamento (Figura 19), possivelmente refletindo o efeito do estresse causado pelo corte, ou seja, a desorganização do sistema de membranas, como resultado do corte. Assim, permite uma maior liberação de C_2H_4 para o exterior dos tecidos, sendo esse C_2H_4 exógeno um sinal externo que estimula a síntese do próprio etileno (Chang e Shockey, 1999) e, conseqüentemente, pode estimular o processo respiratório (Abeles et al., 1992). Quando retirou-se o C_2H_4 da atmosfera interna dos frascos, utilizando-se perclorato de mercúrio, ocorreu menor ascensão respiratória (Figura 19), possivelmente, devido a ausência desse sinal externo.

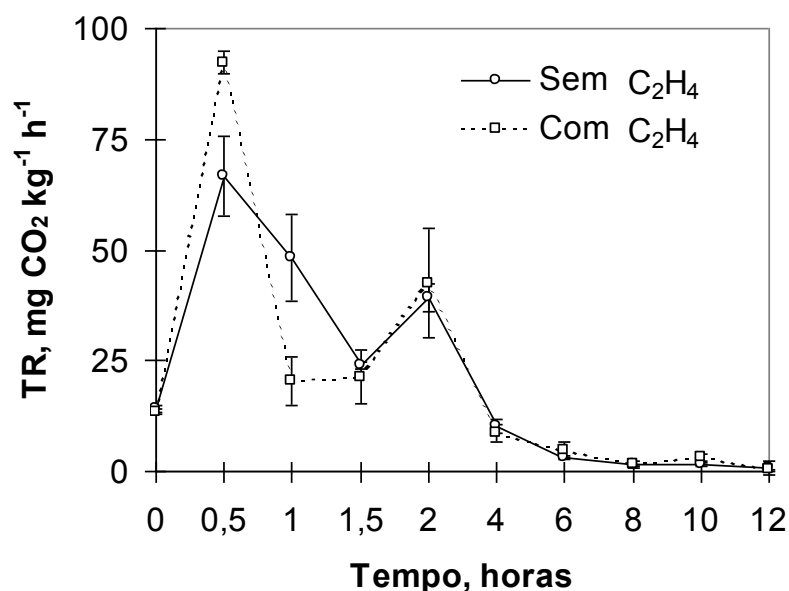


Figura 19. Influência do etileno sobre a taxa respiratória (TR), de repolho minimamente processado, armazenado por 12 horas, num sistema fechado com $HgClO_4$.

Após a ascensão respiratória, a queda da TR, na presença de C_2H_4 , foi mais acentuada do que na ausência, mas observa-se que, após uma hora e meia de armazenamento, as TR's, tanto na presença como na ausência de C_2H_4 , não diferem mais até o final das 12 horas (Figura 19). No entanto, os efeitos do C_2H_4 na TR devem ser analisados com ressalva, uma vez que o perclorato de mercúrio, possivelmente, só foi eficiente em retirar o C_2H_4 presente na atmosfera interna dos frascos e, por isso, a ascensão respiratória na ausência de etileno externo (Figura 19), provavelmente, refletiu os níveis endógenos de C_2H_4 presentes no tecido. Portanto, os efeitos do C_2H_4 na TR,

de repolho minimamente processado, seriam melhor estudados se a síntese de C_2H_4 fosse inibida ao nível da ACC sintase.

A queda na TR, após 2 horas no sistema fechado (Figura 19), tanto na presença como na ausência de C_2H_4 , na atmosfera interna dos frascos, pode estar relacionada possivelmente com o acúmulo de CO_2 (Figura 17a), o qual pode estar mascarando, no sistema fechado, os efeitos do C_2H_4 na TR de repolho minimamente processado.

5.4. Efeito da temperatura na modificação da atmosfera em embalagens plásticas contendo repolho minimamente processado

O equilíbrio de gases, na atmosfera interna das embalagens plásticas PD 961 EZ, foi atingido após três dias de armazenamento refrigerado, nas temperaturas de 5 e 10°C (Figura 20). A concentração de O_2 , a 5°C, se estabilizou num patamar próximo de 8%, enquanto que a 10°C, num patamar médio de 2%, devido, possivelmente, ao maior consumo de O_2 nessa temperatura, resultado da maior TR (Figura 21). Nessa última temperatura, pelo princípio de Arrhenius, a taxa de permeabilidade da embalagem ao O_2 (TPO_2) é maior do que a 5°C, ou seja, como a TPO_2 é maior a 10°C, era de se esperar menor concentração de O_2 a 5°C, o que na prática não ocorreu, mas sim uma concentração 5 vezes maior de O_2 , nessa temperatura. Por outro lado, a concentração de CO_2 , a 10°C, mesmo com maior taxa de permeabilidade ao CO_2 ($TPCO_2$) nessa temperatura (Princípio de Arrhenius), se estabilizou num patamar médio superior ao atingido a 5°C (Figura 20), corroborando com a idéia de maior TR a 10°C, como pode ser verificado na Figura 21.

As diferenças nas concentrações internas de CO_2 e O_2 (Figura 21), nos levam a acreditar que o equilíbrio dos gases, a 5°C, foi, possivelmente, um efeito da baixa temperatura na redução da TR, visto que, nessa temperatura, a quantidade de O_2 (8%) ainda não era suficientemente baixa para inibir a TR, a qual ficou praticamente estável após o terceiro dia de armazenamento (Figura 21).

Com base nas taxas de permeabilidade aos gases da embalagem PD 961 EZ (Tabela 4) e no PCA, para repolho minimamente processado (Figura 18), observa-se que a embalagem, contendo 200g do produto, foi eficiente em

manter níveis de O_2 acima do PCA, tanto a 5 como a $10^\circ C$, o que nos leva a acreditar que não ocorreu, nas temperaturas estudadas, indução da respiração anaeróbica, o que na realidade pode não ser verdade para a temperatura de $10^\circ C$ (Figura 21). A $10^\circ C$, observa-se, do sexto até o décimo segundo dia, uma produção crescente de CO_2 (Figura 21), mesmo sob condições de baixa concentração de O_2 (Figura 20). Segundo Kato-Noguchi e Watada (1996a, b) poderia estar ocorrendo uma alteração do processo respiratório padrão para uma rota capaz de produzir energia química continuamente, sob baixos níveis de O_2 , o que pode não ser verdade para o repolho minimamente processado, visto que a concentração de O_2 está acima do PCA (Figura 18 e 20) e, a partir do décimo segundo dia, observa-se uma tendência de redução da produção de CO_2 (Figura 21), (não observei isto para $10^\circ C$!) sendo que tal fato, provavelmente, não seria observado na ausência de substrato.

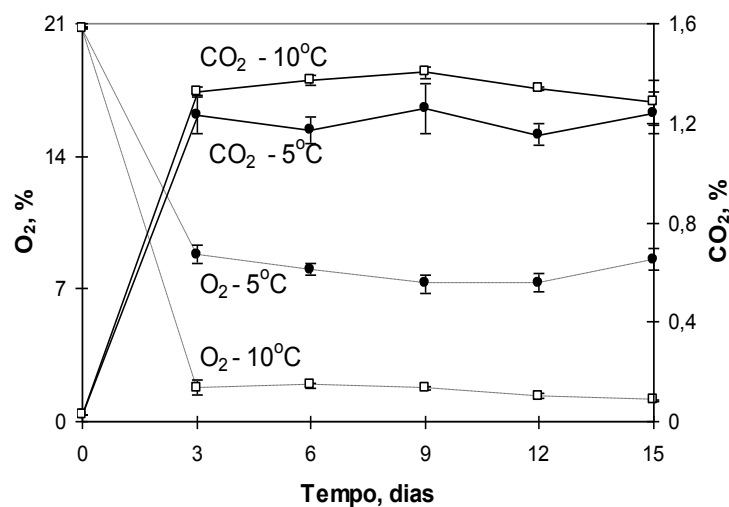


Figura 20. Concentração de CO_2 e O_2 nas embalagens PD 961 EZ, contendo repolho minimamente processado, durante o armazenamento refrigerado, nas temperaturas de 5 e $10^\circ C$.

Por outro lado, a concentração de CO_2 , próxima de 1,2%, acumulada no interior das embalagens plásticas PD 961 EZ (Figura 20) não atingiu níveis suficientes para inibir a TR, tanto a 5 como a $10^\circ C$ (Figura 21).

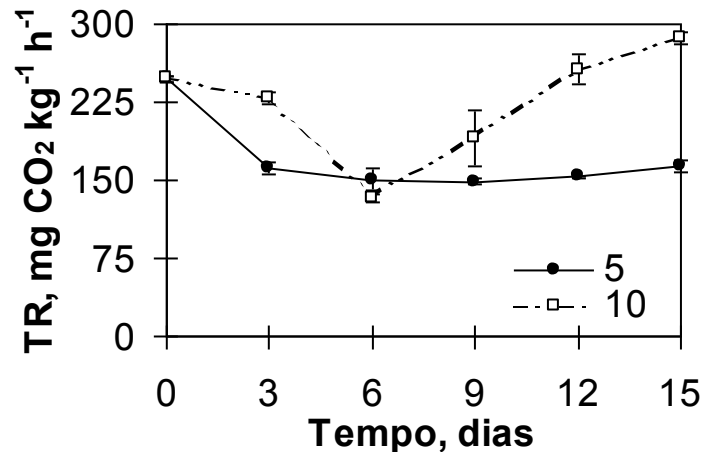


Figura 21. Taxa respiratória (TR) de repolho minimamente processado acondicionado em PD 961 EZ e armazenado nas temperaturas de 5 e 10°C, por 15 dias.

A análise dos dados apresentados indica que a temperatura de 5°C foi eficiente em reduzir “parcialmente” a TR (Figura 20) do produto acondicionado em atmosfera modificada (AM) e que a embalagem utilizada (PD 961 EZ) não exerceu nenhum efeito aditivo nessa redução, uma vez que as concentrações internas de O₂ e CO₂ (Figura 20) não atingiram níveis adequados para reduzir a TR, nessa temperatura (Figura 21). Informação relevante!!!! Quer dizer que a 5°C poderíamos utilizar uma embalagem mais barata do a PD 961 (EZ)??

A 10°C, por outro lado, as maiores TPO_2 e $TPCO_2$, provavelmente, foram as responsáveis por não permitir a redução da concentração de substrato abaixo do PCA e nem o acúmulo excessivo de CO₂, respectivamente. Isso permitiu a respiração aeróbica do repolho minimamente processado, durante todo o período nessa temperatura (Figura 20), o que possivelmente culminou com o maior consumo das reservas e, conseqüentemente, menor qualidade nutricional. A curva da TR *versus* tempo, na temperatura de 10°C, apresenta o comportamento clássico para órgãos vegetais destacados, ocorrendo inicialmente uma queda e, posteriormente, uma ascensão que coincide com a senescência.

Admite-se, com base nos dados, que a temperatura de 5°C pode ser utilizada, com eficiência, no armazenamento de repolho minimamente processado sob condições de AM passiva. No entanto, torna-se extremamente necessário identificar embalagens plásticas com TPO_2 e $TPCO_2$, que

permitam, na temperatura de 5°C, um equilíbrio de gases propício para reduzir a TR, mas sem causar efeitos prejudiciais.

5.5. Efeito da quantidade de repolho minimamente processado na modificação da atmosfera interna das embalagens PD 961 EZ e na qualidade do produto final

5.5.1. Concentração de O₂ e TR

As concentrações de O₂, na atmosfera interna das embalagens PD 961 EZ (PD 961 EZ), contendo 50 e 100g, após o primeiro dia de armazenamento refrigerado (5°C), foram maiores do que nas embalagens contendo 200 e 300g de repolho minimamente processado (Figura 22a), mostrando o efeito da quantidade de produto acondicionado na modificação da atmosfera (Schlimme e Rooney, 1994), uma vez que a relação $A \text{ (área)} Q^{-1}$ (quantidade) também muito importante nesse processo (Solomos, 1994) é constante para todos os tratamentos (Tabela 5). O equilíbrio dinâmico entre a TR (Figura 22b), a concentração interna de O₂ ($[O_2]_{in}$) (Figura 22a) e a TPO_2 (Tabela 5), para PD 961 EZ, contendo 50 e 100g do repolho minimamente processado, nos levam a acreditar que as relações $VIV \text{ (volume interno vazio)} Q^{-1}$, $VIV A^{-1}$ e $A Q^{-1}$ (Tabela 5) foram superestimadas para essas quantidades, de tal forma que as concentrações internas de O₂ (Figura 22a) e de CO₂ (Figura 23) não atingiram níveis suficientemente adequados para reduzir a TR (Figura 22b).

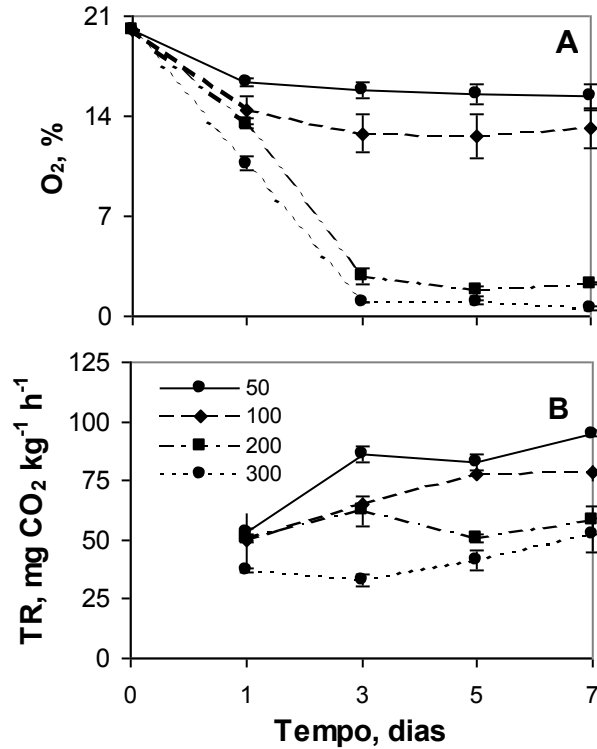


Figura 22. Concentração interna de O₂ – a – e taxa respiratória – b – durante o armazenamento refrigerado de repolho minimamente processado e acondicionado em diferentes quantidades nas embalagens plásticas PD 961 EZ.

Nas embalagens PD 961 EZ contendo 200g de repolho minimamente processado, as concentrações de O₂ (Figura 22a) e CO₂ (Figura 23), atingiram níveis próximos de 2 e de 4,5 respectivamente, enquanto que nas embalagens, com 300g, esses níveis foram, respectivamente, próximo de 1 (Figura 22a) e 5,5 (Figura 23). A análise dos dados permite inferir que nessas embalagens, contendo 200 e 300g, as concentrações de O₂ e CO₂ atingidos, no equilíbrio dinâmico, foram suficientes para reduzir a TR (Figura 22b), na temperatura utilizada, uma vez que os baixos níveis O₂, associado com níveis elevados de CO₂, exercem efeitos aditivos na redução da TR (Zagory e Kader, 1988).

A faixa ótima para os níveis de O₂ e CO₂, no armazenamento refrigerado ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) de repolho intacto, são, respectivamente, 3 a 5%O₂ e 5 a 7%CO₂ (Moleyar e Narisimham, 1994), mas Kader et al., (1989) propõem, para o armazenamento de repolho, o limite máximo de 5% de CO₂. No presente trabalho, os níveis de CO₂ atingidos encontram-se dentro da faixa recomendada. No entanto, os níveis de O₂ ficaram um pouco abaixo de 1%, na

embalagem com 300g; mas acima do PCA, para repolho minimamente processado, conforme observado na Figura 18. Por isso, acredita-se que essa condição de hipoxia não induziu a respiração anaeróbica do repolho minimamente processado, como pode ser observado na figura 22b.

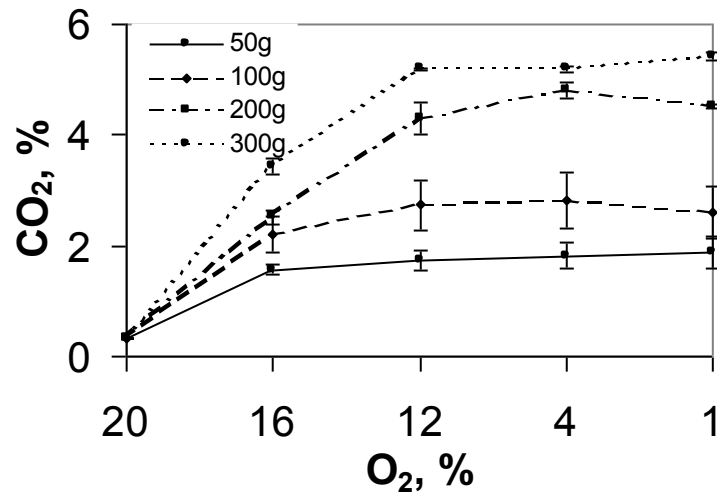


Figura 23. Concentração de CO₂ em função da concentração de O₂, na atmosfera interna das embalagens PD 961 EZ, contendo diferentes quantidades de repolho minimamente processado, durante o armazenamento refrigerado, a 5°C, por sete dias.

5.5.2. Sólidos solúveis totais, Vitamina C, Cor e PPO

Durante o período de armazenamento refrigerado (5°C), não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos teores de sólidos solúveis totais (Figura 24a), do repolho minimamente processado, acondicionado, em diferentes quantidades, nas embalagens PD 961 EZ, exceto no terceiro dia, quando o produto, das embalagens com 200 e 300g, apresentou valores superiores ao das embalagens com 50 e 100g (Figura 24a). No entanto, é possível perceber uma leve queda, ao longo do período de armazenamento, a qual reflete, provavelmente, as TR's (Figura 22b) e, dentre os tratamentos, observa-se uma leve superioridade no produto embalado nas quantidades de 200 e 300g, os quais apresentaram menores TR's (Figura 22b).

Com relação a vitamina C, observou-se, no primeiro dia de armazenamento, uma leve queda em todos os tratamentos (Figura 24b), a qual se estabilizou após esse dia, exceto na quantidade de 50g, a qual apresentou

queda contínua até o terceiro dia (Figura 24b). Embora não significativa, o produto acondicionado na quantidade de 300g, apresentou uma leve superioridade em comparação aos outros tratamentos (Figura 24b). A redução, nos teores de vitamina C, pode estar associada com as $[O_2]_{in}$ (Figura 22a) e, conseqüentemente, com as TR's (Figura 22b), pois em condições aeróbicas e com altas TR's a degradação dessa vitamina é maior (Klein, 1987, Favell, 1988). No entanto, o efeito aditivo dos níveis elevados de CO_2 ($[CO_2]_{in}$), no metabolismo da vitamina C, ainda não são bem entendidos (Watada et al., 1996).

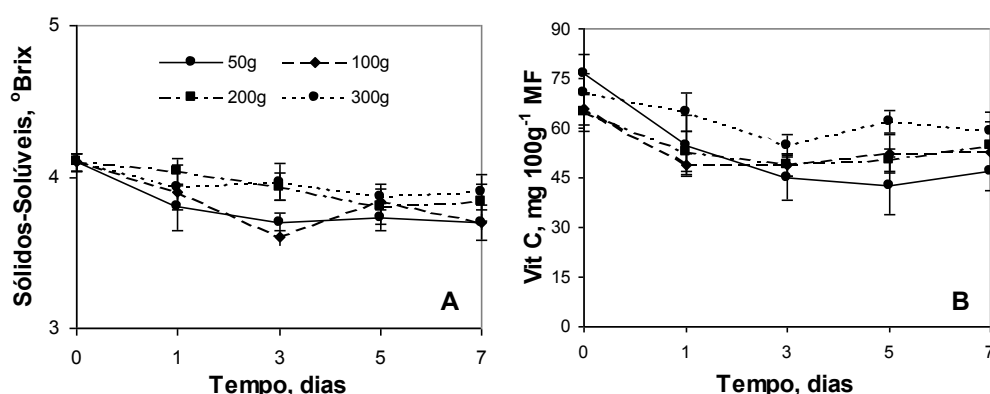


Figura 24. Teor de sólidos solúveis totais (°Brix) – **A** – e teor de vitamina C – **B** – de repolho minimamente processado, acondicionado em PD 961 EZ e armazenado, a 5°C, por sete dias.

Sugiro que a unidade empregada para o conteúdo de vitamina C total seja $mg.kg^{-1}$ (SIU)

O armazenamento de brócoli em atmosfera controlada, com concentrações de CO_2 ($\approx 9\%$) e de O_2 ($\approx 3\%$), na temperatura ambiente, manteve os teores de vitamina C durante o período de armazenamento (Barth et al., 1993). Observou-se, posteriormente, que o armazenamento de brócoli, em atmosfera modificada, a 5°C, utilizando-se PD 941, manteve, durante 6 dias de armazenamento, praticamente estável os teores de vitamina C, na faixa de $5 mg 100g^{-1} MS$, enquanto o armazenamento em embalagens perfuradas (1cm de diâmetro a cada 3cm) permitiu a redução da vitamina C para, aproximadamente, $2 mg 100g^{-1} MS$ (Barth e Zhuang, 1996), corroborando com a hipótese de que a atmosfera modificada passiva é uma das ferramentas essenciais na manutenção da vida útil do produto.

Para repolho minimamente processado, observou-se que o armazenamento em atmosfera modificada retardou a degradação da vitamina C, apesar de que o repolho, tanto intacto como minimamente processado, apresenta pequena perda dessa vitamina (Klein, 1987).

Os valores de Brilho (L) (Como mediu o brilho? Encostou o colorímetro na massa de repolho minimamente processado? (Figura 25a) mostram que no primeiro dia, em todos os tratamentos, ocorre um ligeiro escurecimento dos tecidos vegetais, o qual é mais intenso nas embalagens contendo 50 e 100g do produto do que nas embalagens contendo 200 e 300g, o que pode ser, também, verificado com o incremento de escurecimento (DE), o qual mostra um escurecimento do tecido no primeiro dia e, depois, uma estabilização, porém com o maior incremento nos produtos acondicionados nas quantidades de 50 e 100g (Figura 25b).

O escurecimento dos tecidos vegetais pode originar tanto de processos não enzimáticos, o qual pode estar relacionado com a degradação da vitamina C (Klein, 1987), como, também, de processos enzimáticos, que ocorrem por meio de reações oxidativas catalisadas por fenolases, como por exemplo a PPO (Vaughn e Duke, 1984, McEvily e Iyengar, 1992, Schlimme, 1995), sendo esses diretamente relacionados com a $[O_2]_{in}$ (Whitaker e Lee, 1994), com a atividade da PAL (fenilalanina amônia liase) (Couture et al., 1983), com o conteúdo de fenólicos e, por último, com o tipo de PPO (Goupy et al., 1995).

O escurecimento enzimático, principalmente após o processamento mínimo dos vegetais, é uma das principais causas da perda de qualidade visual (López-Gálvez et al., 1996), sendo observado em vários produtos, tais como alface (Couture et al., 1983, Sapers et al., 1990), cenoura (Bolin e Huxsoll, 1991) e repolho (Yano e Saijo, 1987, Takahasi et al., 1996). Em repolho minimamente processado, a atividade da PPO foi modulada pela quantidade de produto acondicionado nas embalagens (Figura 25d), possivelmente, refletindo as $[O_2]_{in}$ (Figura 22a), uma vez que o O_2 interno é um dos substratos essenciais para a atuação dessa enzima. Talvez por isso, nas embalagens contendo 50 e 100g de repolho minimamente processado, com maior $[O_2]_{in}$ (Figura 22a), observa-se maior atividade de PPO, no produto, quando comparado com o repolho acondicionado em maior quantidade (Figura 25d). Nas PD 961 EZ, contendo 200 e 300g, o produto, após o corte,

apresentou uma leve queda, seguida de um incremento até o terceiro dia. Apartir desse dia, voltou a cair (Figura 25d), coincidindo com a baixa $[O_2]_{in}$ atingida no equilíbrio dinâmico dos gases, nessas quantidades (Figura 22a).

A retenção da cor verde, medida pelo ângulo hue (Hue), praticamente, seguiu a mesma queda inicial para todos os tratamentos (Figura 25c), a qual coincide com a redução da vitamina C (Figura 24b) e do brilho (Figura 25a) e com o aumento do escurecimento (Figura 25b). As curvas de Hue *versus* tempo, nos produtos, armazenados nas quantidades de 200 e 300g, foram semelhantes até o terceiro dia de armazenamento, quando ocorreu uma queda acentuada no produto acondicionado na quantidade de 300g, provavelmente devido ao aumento na $[CO_2]_{in}$ (Figura 23), o qual pode ter reduzido o pH intracelular e, também, a integridade das membranas celulares, aumentando, assim, a taxa de degradação das clorofilas (Heaton e Marangoni, 1996).

Ao final do sétimo dia, não se observou diferenças significativas, na retenção da cor verde, entre os tratamentos (Figura 25c). Possivelmente, as baixas $[O_2]_{in}$ (Figura 22a) tenham reduzido a degradação de clorofila, uma vez que o O_2 é substrato essencial para a atividade da feídeo a oxigenase, enzima chave no processo de degradação desses pigmentos e altamente dependente de O_2 (Matile et al., 1996). Ao contrário do observado no produto acondicionado na quantidade de 300g, no qual a alta $[CO_2]_{in}$ nas embalagens (Figura 23), possivelmente mascarou os efeitos da baixa TR (Figura 22b) na redução da degradação de clorofila, na quantidade de 200g, acredita-se que os efeitos da baixa $[O_2]_{in}$ (Figura 22a) e, também, da baixa TR, nessa quantidade (Figura 22b), foram aditivos em manter o processo de retenção da cor verde (Figura 25c).

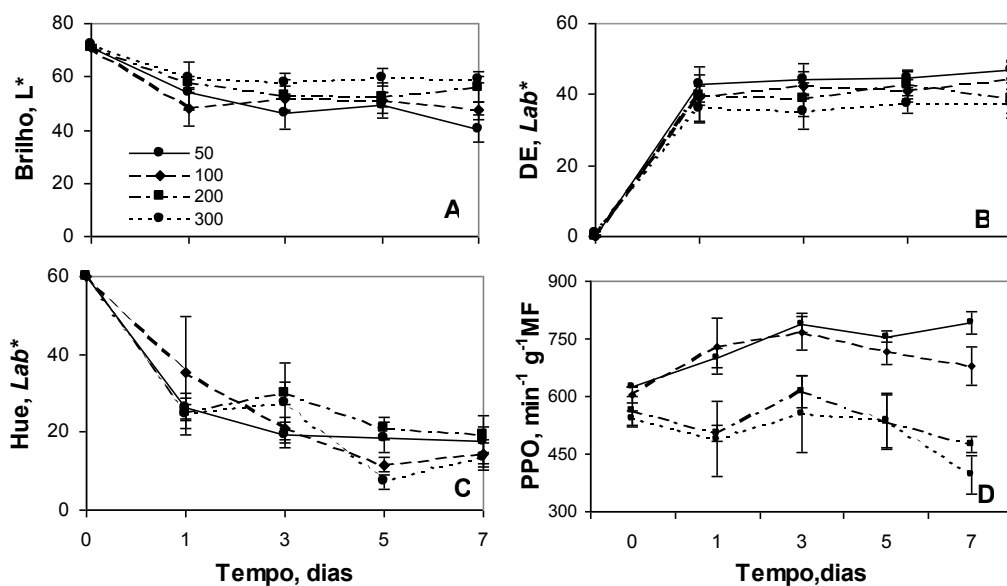


Figura 25. Brilho (L*) – A; DE (CTLab*) – B; ângulo hue (CTLab*)– C; e atividade da PPO – D – de repolho minimamente processado, acondicionado em PD 961 EZ e armazenado, a 5°C, por sete dias.

Conclui-se, com base nos dados, que as relações $VIV Q^{-1}$, $VIV A^{-1}$ e $A Q^{-1}$, para as embalagens PD 961 EZ contendo 200 e 300g de repolho minimamente processado, foram adequadas para permitir um equilíbrio dinâmico de gases na atmosfera interna, quando armazenado a 5°C. Esse equilíbrio dinâmico, com baixas $[O_2]_{in}$ e elevado $[CO_2]_{in}$, possivelmente, foi o responsável por reduzir a TR e a atividade da PPO, reduzindo assim o escurecimento (L, DE) e, mantendo, pelo menos parcialmente, o teor de sólidos solúveis totais, a vitamina C e a cor verde do produto. Admite-se, então, que para embalagens com a relação $TPO_2/TPCO_2$ próximo a 1/3, a TPO_2 necessária para acondicionar um grama de repolho minimamente processado, na temperatura de 5°C, seja na faixa de 1,4 a 1,9 cm^3 de O_2 dia^{-1} e a $TPCO_2$, 4,2 a 5,6 cm^3 de CO_2 g^{-1} dia^{-1} .

5.6. Conservação refrigerada de repolho minimamente processado em diferentes embalagens plásticas

5.6.1. Perda de massa ($P = m \cdot g$)

A perda de massa, em repolho minimamente processado, acondicionado em embalagens plásticas foi praticamente nula (Figura 26), não ocorrendo diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as embalagens plásticas utilizadas, uma vez que a perda de massa é resultante, principalmente, da perda de água. No interior de embalagens plásticas, a saturação de vapor d'água não favorece a formação de um gradiente de pressão de vapor entre o produto e o espaço interno vazio, dificultando a perda de água.

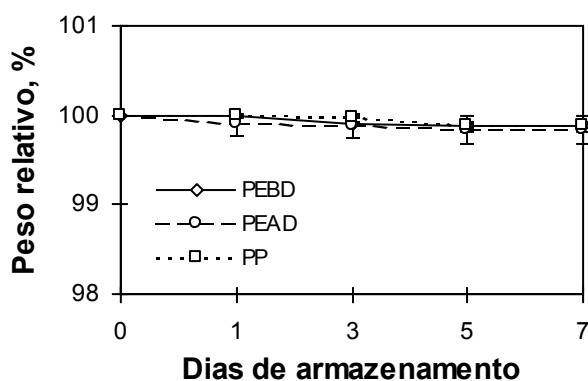


Figura 26. Peso relativo de repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens e armazenado por sete dias, na temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

5.6.2. Dióxido de carbono e pH

A concentração de CO_2 , na atmosfera das embalagens ($[\text{CO}_2]_{\text{in}}$), contendo repolho minimamente processado (Figura 27a), aumentou com o tempo, devido provavelmente ao processo respiratório associado à barreira exercida pela embalagem, permitindo o equilíbrio dinâmico entre as concentrações de CO_2 interna e externa. As curvas de $[\text{CO}_2]_{\text{in}}$ versus tempo foram semelhantes para todas as embalagens plásticas até o quinto dia de armazenamento, após o qual ocorre um maior acúmulo de $[\text{CO}_2]_{\text{in}}$ nas embalagens PEAD e PP (Figura 27a), atingindo níveis de $[\text{CO}_2]_{\text{in}}$ próximos de 3%, enquanto na PEBD, a $[\text{CO}_2]_{\text{in}}$ ficou próximo de 1,5% (Figura 27a).

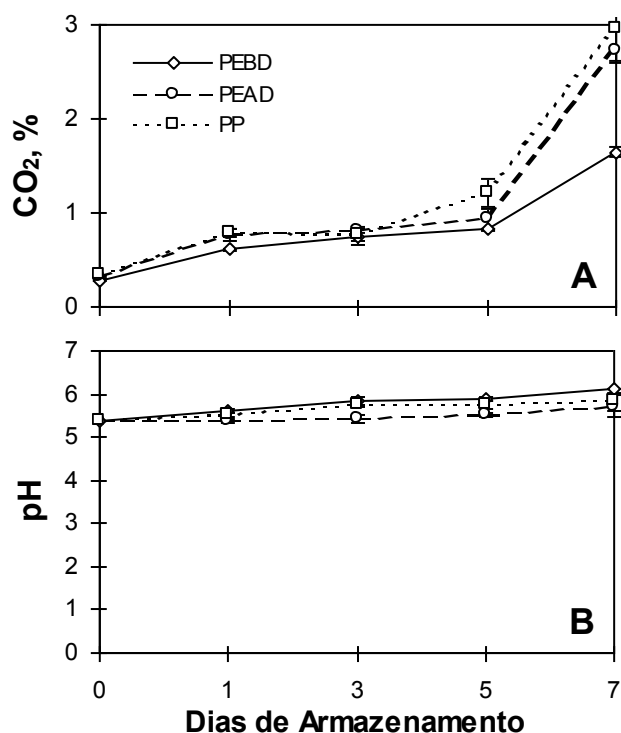


Figura 27. Efeitos das embalagens sobre o acúmulo de CO₂ na atmosfera interna das diferentes embalagens – **A** – e pH do repolho minimamente processado – **B** – durante o armazenamento refrigerado por sete dias.

As $[CO_2]_{in}$ são compatíveis com as $TPCO_2$ característica de cada embalagem plástica (Tabela 6), sendo que a PEBD apresenta $TPCO_2$ menor que as apresentadas pelas PEBD e PEAD (Tabela 6) e, talvez por isso, a PEBD apresentou $[CO_2]_{in}$ menores do que a acumulada nas outras duas embalagens plásticas.

A $[CO_2]_{in}$ das embalagens PEAD e PP atingiram níveis suficientes para reduzir a TR, como apresentado anteriormente, enquanto que na PEBD, a $[CO_2]_{in}$ foi baixa demais para exercer qualquer efeito benéfico na redução do metabolismo. Mesmo assim, acredita-se que o metabolismo do produto acondicionado na PEBD, não seja muito diferente daquele apresentado pelo produto acondicionado nas outras duas embalagens, uma vez que a temperatura de 5°C, é eficiente em reduzir a velocidade dos processos enzimáticos, tal como a TR, como apresentado anteriormente no item 5.2.

Verificou-se que os valores de pH, do repolho minimamente

processado, variaram muito pouco com o tempo, não apresentando também efeito significativo das embalagens plásticas testadas (Figura 27b), no entanto, nas três embalagens, observou-se um pequeno aumento com o tempo de armazenamento (Figura 27b). Acredita-se que o aumento de pH, em minimamente processados, seja uma consequência do metabolismo normal do CO₂ ou uma resposta do tecido ao neutralizar a acidez gerada pelo CO₂ (Kader, 1986). Em muitos casos, no entanto, o aumento do pH pode estar relacionado com um aumento na contagem de microrganismos (Marth, 1998).

5.6.3. Cor e clorofila

As curvas de brilho *versus* tempo apresentam o mesmo comportamento para os produtos embalados nas três embalagens plásticas, ou seja, as embalagens não exerceram efeito significativo ($p > 0,05$) nesta variável, pois em todas elas, o produto só apresentou queda drástica no brilho a partir do quinto dia de armazenamento (Figura 28a). A queda no brilho, possivelmente, pode estar relacionada com o aumento no escurecimento (Figura 28b), o qual apresenta comportamento semelhante em todas as embalagens, ou seja, um aumento inicial, após o processamento, seguido de um período estável até o quinto dia e, depois, voltando a subir no sétimo dia de armazenamento (Figura 28b), provavelmente, refletindo a maior atividade da PPO, nesses produtos, uma vez que a $[O_2]_{in}$ deve ser maior devido a maior TPO_2 (Tabela 6).

Outro fator importante, no escurecimento, logo após o corte, é descompartimentalização celular que ocorre quando as células são cortadas, permitindo que substratos e oxidases entrem em contato, sendo que o processo de injúria pode estimular a síntese tanto de enzimas envolvidas nas reações de escurecimento como também de substratos (Rolle e Chism, 1987). Por exemplo, a enzima fenilalanina amônia liase (PAL), que catalisa um passo limitante no metabolismo de fenil propanóides (Ke e Saltveit, 1989), pode ser induzida por etileno e por injúrias na maioria dos tecidos vegetais (Abeles et al., 1992). Ressalta-se, também, que a degradação da vitamina C pode aumentar o escurecimento dos tecidos, segundo Klein (1987).

O período de estabilidade, compreendido entre o primeiro e quinto dia de armazenamento, parece estar relacionado com o efeito da baixa

temperatura em reduzir o metabolismo vegetal, conforme mostrado anteriormente. No entanto, o aumento final no escurecimento, nos leva a sugerir um efeito de embalagem.

Na PEBD, a maior TPO_2 , possivelmente, não permitiu que a $[O_2]_{in}$ abaixasse até níveis suficientes para reduzir a disponibilidade de substrato para a PPO e, talvez por isso, o escurecimento do produto, nessa embalagem foi maior do que nas outras duas (Figura 28b). Nas embalagens PEAD e PP, no entanto, as altas $[CO_2]_{in}$, possivelmente, podem estar envolvidas no escurecimento por meio de um mecanismo ainda não bem entendido. Varouquaux et al., (1996), trabalhando com cinco variedades de alface, armazenadas por oito dias a 8°C, verificaram que o escurecimento das folhas e das nervuras estavam diretamente relacionados com a concentração de CO_2 .

A retenção da cor verde, estimada pelos valores de Hue, foi maior na PEBD, possivelmente também, pela maior $[O_2]_{in}$, visto que o O_2 é um dos substratos essenciais da enzima clorofilase, uma das enzimas chave na rota de degradação de clorofila, a qual é altamente dependente de O_2 (Heaton e Marangoni, 1996, Matile et al., 1996). Portanto, acredita-se que nas PEAD e PP, as menores TPO_2 permitiram o abaixamento da $[O_2]_{in}$, reduzindo assim o substrato das enzimas oxidases envolvidas nos processos enzimáticos de degradação da clorofila, permitindo que o produto nelas acondicionado apresentassem uma maior retenção da cor verde (Figura 28c).

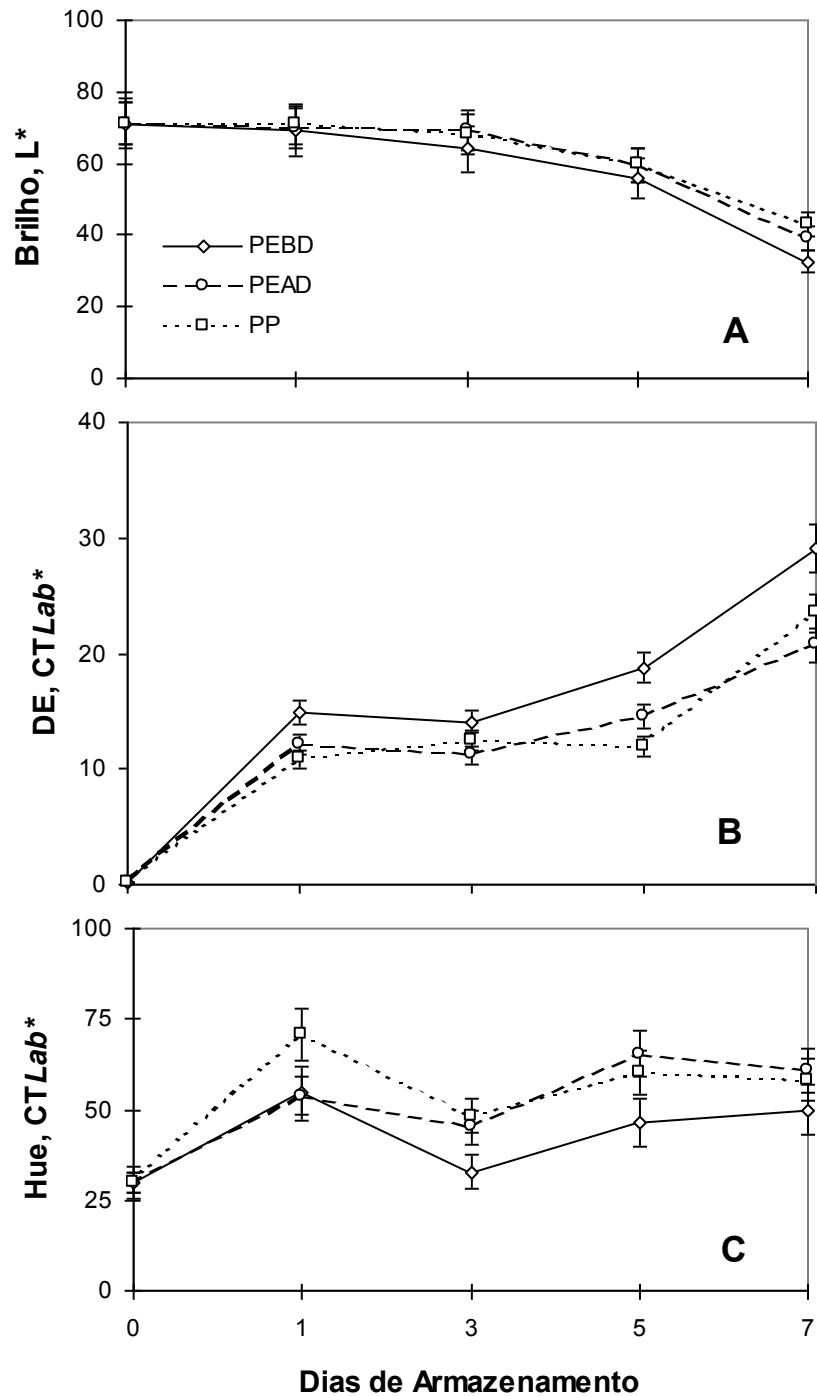


Figura 28. Brilho – A – incremento de escurecimento – B – e Hue – C – de repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenados, na temperatura de 5°C, por sete dias.

Relacionando-se os valores de Hue (Figura 28c) e de clorofila total (Figura 29), para repolho minimamente processado, observa-se que não ocorreu diferença significativa ($p>0,05$) entre as embalagens, ou seja, a queda

nos teores de clorofila total, no repolho minimamente processado, foi praticamente igual nas três embalagens testadas. No entanto, verifica-se que os valores de Hue, estimados por meio de um colortec, reflete, pelo menos parcialmente, o comportamento nos teores de clorofila. Após o corte, ocorre um aumento na retenção da cor verde, como discutido anteriormente no item adaptação de metodologia. A queda nos teores de clorofila, após o primeiro dia de armazenamento (Figura 29) é acompanhada por uma menor retenção na cor verde (Figura 28c) e, posteriormente, a estabilidade nos teores de clorofila (Figura 29) é, por sua vez, também acompanhada por um aumento na retenção da cor verde, como pode ser verificado pelos valores de Hue na Figura 28c.

Diversos autores (Avhenainen, 1997, Rolle e Chism, 1987) destacam que, em vários vegetais minimamente processados, há perda de clorofila em consequência do processo de senescência. No entanto, o acondicionamento em atmosfera modificada (Barth et al., 1993) e em condições ótimas de temperatura (Watada et al., 1990), pH e O₂ (Heaton e Marangoni, 1996) e, também, em níveis baixos de etileno (Yamauchi e Watada, 1991) podem reduzir a degradação de clorofila durante a vida de prateleira do produto.

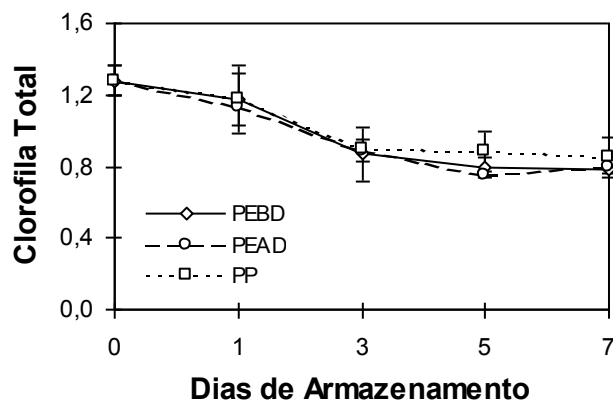


Figura 29. Valores de clorofila total (mg g^{-1} MF), em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenado, a $5 \pm 1^\circ\text{C}$, por sete dias.

Embora tenha ocorrido queda nos teores de clorofila, nas três embalagens testadas, acredita-se que a mesma não foi suficiente para afetar a qualidade visual do repolho minimamente processado, visto que o produto

original não apresentava teores elevados de clorofila e nem se percebeu o aparecimento da coloração amarelada típica de tecidos vegetais em estágio avançado de senescência.

5.6.4. Sólidos-solúveis totais

Não houve variação significativa nos teores de sólidos-solúveis totais, nas embalagens testadas durante o armazenamento refrigerado de repolho minimamente processado (Figura 30). Provavelmente, o baixo metabolismo, na temperatura de 5°C, associado com as altas [CO₂]_{in}, reduzindo ainda mais os processos metabólicos, foram os principais agentes dessa redução no consumo das reservas celulares.

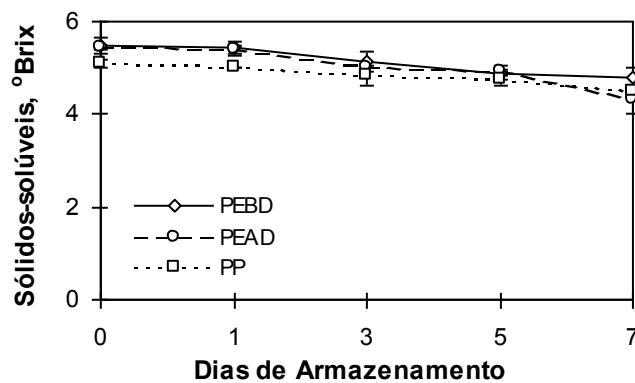


Figura 30. Sólidos-solúveis, expressos em °Brix, em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenado, a 5 ± 1°C, por sete dias.

4.6.5. Carotenóides Totais???

Quais são os pigmentos carotenóides predominantes em repolho?

Os teores de carotenóides, em repolho minimamente processado, apresentaram, inicialmente, tendência de aumento, e depois de queda, no final do período de armazenamento, nas três embalagens plásticas testadas (Figura 31). Possivelmente, no repolho minimamente processado e acondicionado nas três embalagens, pode ter ocorrido, inicialmente, tanto a síntese *de novo* de carotenóides como também o desmascaramento como resultado da degradação de clorofila (Figura 29), como proposto por Peñarrubia e Moreno (1994).

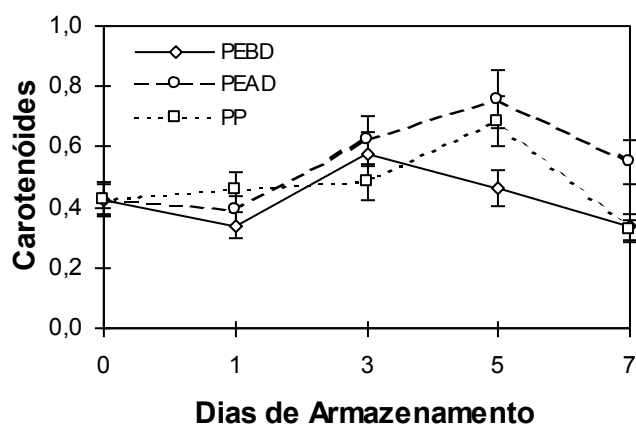


Figura 31. Teores de carotenóides (mg g^{-1} MF), em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenado, a $5 \pm 1^\circ\text{C}$, por sete dias.

A manutenção de carotenóides, durante o armazenamento de repolho minimamente processado, é de fundamental importância na preservação da qualidade nutricional, uma vez que eles são precursores diretos da vitamina A, presente em grandes quantidades nas brássicas (Kurilich et al., 1999).

4.6.6. Vitamina C total???

Os teores de vitamina C apresentaram pequena queda, nos produtos acondicionados nas três embalagens testadas, não observando-se diferença significativa entre elas ($p > 0,05$) durante os períodos de amostragem (Figura 32). A redução média apresentada nos teores de vitamina C, durante todo o período de armazenamento, foi muito pequena, na faixa de 10 a 15%, sendo que o repolho minimamente processado, no final do sétimo dia de armazenamento, a 5°C , apresentava ainda, em média, $56 \text{ mg de vitamina C } 100\text{g}^{-1}\text{MF}$.

A vitamina C, segundo Klein (1987) e Favell (1988), pode ser utilizada como um indicador de qualidade, devido a sua alta sensibilidade aos fatores do meio, tais como temperatura, pH, O_2 e outros fatores intrínsecos do processo de senescência. De um modo geral, observou-se que as três embalagens utilizadas, associadas com a baixa temperatura de armazenamento, mantiveram os teores de vitamina C ao longo do período de armazenamento

(Figura 32), possivelmente, de acordo com os autores supracitados, também mantendo a qualidade nutricional do produto.

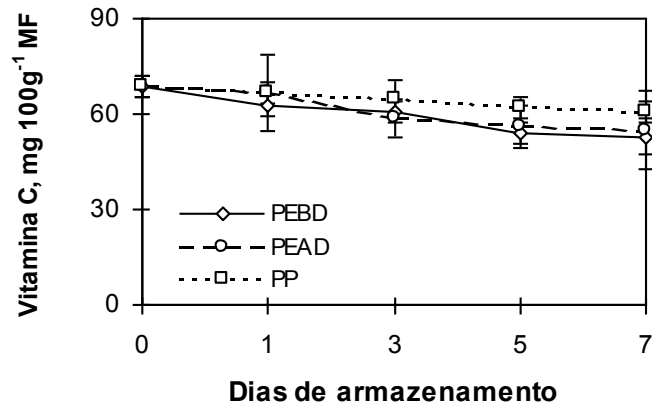


Figura 32. Teores de vitamina C, em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas armazenados, a 5°C, por sete dias.

Por que não comparou o teor de vitamina C total em repolho minimamente processado com o intacto?

4.6.7. Escurecimento

Para o escurecimento (A_{340}), ocorreu interação significativa ($p < 0,05$) entre a embalagem e tempo de armazenamento, observando-se, no sétimo dia, escurecimento mais intenso sob o tratamento PEBD (Figura 33), provavelmente, devido a sua maior TPO_2 .

O escurecimento, segundo Klein (1987), pode estar associado com a degradação da vitamina C; mas para repolho minimamente processado, devido à baixa redução nos teores de vitamina C, acredita-se que esse escurecimento possa ser enzimático, envolvendo tanto a PAL (Couture et al., 1983) como a PPO (Fujita et al., 1995).

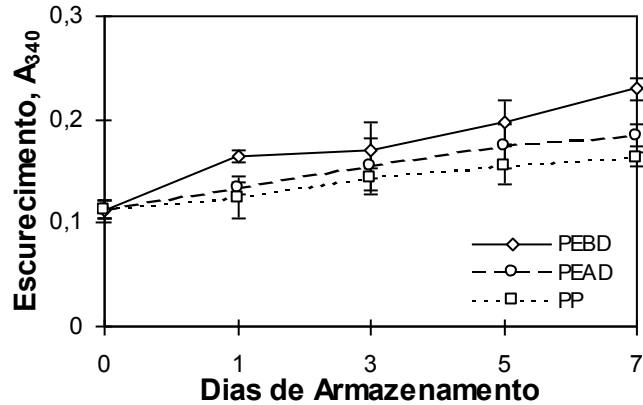


Figura 33. Escurecimento (A_{340}) em repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens e armazenado, a 5°C, por sete dias.

4.6.8. Análise sensorial

Os teste de aceitabilidade apontaram diferenças entre as embalagens plásticas utilizadas, após o quinto dia de armazenamento refrigerado, na temperatura de 5°C (Tabela 10). Não houve aceitação significativa ($p > 0,05$), entre os produtos acondicionados nas três embalagens testadas, até o terceiro dia de armazenamento refrigerado (Tabela 10). Quando armazenados por cinco e sete dias, houve aceitação significativa ($p < 0,05$) e as amostras acondicionadas nas embalagens de PEBD foram as de menor aceitação, provavelmente devido ao maior escurecimento. No entanto, o repolho minimamente processado acondicionado nas embalagens de PEAD e PP apresentaram, no quinto dia de armazenamento, basicamente a mesma aceitação e ao sétimo dia, uma pequena superioridade das amostras acondicionadas nas embalagens de PP (Tabela 10).

Os índices de escurecimento à A_{340} (Figura 32) e de cor (L, DE e Hue – Figura 27) nos levam a sugerir que as embalagens utilizadas, exceto PEBD, foram apropriadas para o armazenamento refrigerado ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) de repolho minimamente processado, o qual apresentou níveis satisfatórios de aceitabilidade após um período de sete dias de armazenamento nessas condições.

Tabela 10. Médias das notas obtidas pelo teste de aceitabilidade para repolho minimamente processado, acondicionado em diferentes embalagens plásticas e armazenados, a $5 \pm 1^\circ\text{C}$, por sete dias

EMBALAGEM	TEMPO DE ARMAZENAMENTO (Dias)			
	1	3	5	7
PP	8,90 a	8,04 a	8,05 a	6,33 a
PEAD	8,85 a	7,93 a	8,00 a	6,24 a
PEBD	8,36 a	7,78 a	4,65 b	3,42 b

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem quanto à preferência ($p > 0,05$).

RESUMOS E CONCLUSÕES

Estudou-se, nesse trabalho, os efeitos fisiológicos e bioquímicos causados pelo processamento mínimo, visando definir-se tecnologia adequada ao processamento de repolho para uso comercial, com boa qualidade e vida de prateleira comercialmente viável. Estudou-se, também, as operações envolvidas no processamento mínimo em relação à manutenção da qualidade pós-colheita de repolho, por meio da quantificação de efeitos fisiológicos e bioquímicos durante o armazenamento refrigerado associado com atmosfera modificada passiva. Investigou-se o processo respiratório e a evolução de etileno do produto cortado, visando desenvolver tecnologia aplicável comercialmente na conservação pós-colheita de hortaliças minimamente processadas.

Adequou-se metodologia para o estudo do processamento mínimo de hortaliças, utilizando-se o repolho como modelo. Estudou-se duas espessuras de corte, verificando-se que a espessura 1-3 mm apresentou maior taxa respiratória e o tempo de centrifugação necessário para retirar o excesso de água provenientes da sanitização e enxágüe foi de 10 minutos a 800 x *g*.

Foram estabelecidos, também, métodos para a análise da taxa respiratória e da produção de etileno do produto intacto e minimamente processado, em sistemas abertos e fechados, e caracterizado o produto submetido a diversos tipos de embalagem e temperatura para armazenamento.

A taxa respiratória e a evolução de etileno aumentaram imediatamente após a colheita, não estabilizando-se após doze horas num sistema fechado mantido na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Com base nesses resultados, sugere-se que o processamento mínimo de repolho seja realizado após um período de resfriamento rápido de um dia, na temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$, evitando-se, assim, realizá-lo logo após a colheita, quando a taxa respiratória e a produção de etileno, estão mais acentuadas.

O corte aumentou a taxa respiratória e a evolução de etileno em aproximadamente 8 e 13 vezes, respectivamente. O estresse provocado pelo corte, durante o processamento mínimo, desencadeou efeitos drásticos sobre o metabolismo respiratório e hormonal do produto picado.

A elevação da temperatura aumentou tanto a taxa respiratória como a evolução do etileno do repolho minimamente processado mantido em sistemas fechados ou abertos. Dentre as temperaturas testadas, verificou-se que a temperatura de 5°C é a mais indicada para o armazenamento desse produto, uma vez que apresenta resultados semelhantes ao produto armazenado à 1°C .

Com relação ao efeito dos gases, verificou-se que o CO_2 , C_2H_4 e O_2 exerceram efeitos marcantes na taxa respiratória do produto minimamente processado, sendo que o ponto de compensação anaeróbica do repolho minimamente processado está na faixa de 0,3% de O_2 .

O estudo das relações entre quantidade de produto e área superficial da embalagem para composição de uma atmosfera modificada passiva, na temperatura de 5°C , concluiu-se que 1g de repolho minimamente processado necessita de uma permeabilidade ao O_2 , na embalagem a ser utilizada, na faixa 1,4 a $1,9 \text{ cm}^3$ de O_2 dia⁻¹, e ao CO_2 de 4,2 a $5,6 \text{ cm}^3$ de CO_2 dia⁻¹.

Verificou-se que as embalagens PEBD, PEAD e PP são apropriadas para o armazenamento refrigerado de repolho minimamente processado, por um período de sete dias na temperatura de 5°C , desde que as relações acima sejam mantidas.

CITAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M.E.M., NOGUEIRA, J.N., The control of polyphenol oxidase activity in fruits and vegetables. A study of the interactions between the chemical compounds used and heat treatment. *Plant Foods Hum. Nut.*, 47:245-256, 1995.
- AHVENAINEN, R. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends Food Sci. Tech.*, 7:179-187. 1996.
- ARTÉS, F., CONESA, M.A., HERNÁNDEZ, S., GIL, M.I. Keeping quality of fresh-cut tomato. *Posth. Biol. Tech.*, 17:153-162. 1999.
- BARTH, M.M., KERBEL, E.L., BROUSSARD, S., SCHIMIDT, S.J. Modified atmosphere packaging protects market quality in broccoli spears under ambient temperature storage. *J. Food Sci.*, 58:1070-1072. 1993.
- BARTH, M.M., ZHUANG, H. Packaging design affects antioxidant vitamin retention and quality of broccoli florets during postharvest storage. *Posth. Biol. Technol.*, 9:141-150. 1996.
- BOERSIG, M.R., KADER, A.A., ROMANI, R.J. Aerobic-anaerobic respiratory transition in pear fruit and cultured pear fruit cells. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 113:869-873. 1988.
- BOLIN, H.R., HUXSOLL, C.C. Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *J. Food Sci.*, 56:416-418. 1991.
- BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience* 30(1):18-22. 1995.
- CAMERON, A.C., TALASILA, P.C., JOLES, D.W. Predicting film permeability needs for modified-atmosphere packaging of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30(1):25-34. 1995.

- CANTWEL, M., Postharvest handling systems: minimally processed fruits and vegetables. In: KADER, A.A. (Ed). *Postharvest technology of horticultural crops*. 2ed University of California, Division of horticultural and natural resources, Davis, Publ, p. 273-281. 1992.
- CHANG, C., SHOCKEY, J.A., The ethylene-response pathway: signal perception to gene regulation. *Curr. Op. in Plant Biol.*, 2:352-358, 1999.
- COUEY, H.M. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. *HortScience*, 17:162-165. 1982.
- COUTURE, R., CANTWELL, M.I., KE, D., SALTVEIT, Jr., M.E. Physiological attributes related to quality attributes and storage life of minimally processed lettuce. *HortScience* 28(7):723-725. 1993.
- EXAMA, A., ARUL, J., LENCKI, R.W., LEE, L.Z., TOUPIN, C. Suitability of plastic films for modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *J. Food Sci.*, 58(6):1365-1370. 1993.
- FAVELL, D.J. A comparison of the vitamin C content of fresh and frozen vegetables. *Food Chem.*, 62(1):59-64. 1998.
- FUJITA, S., TONO, T., Purification and some properties of polyphenol oxidase from in eggplant (*Solanum melongena*). *J. Sci. Food Agric.*, 46:115-123, 1988.
- FUJITA, S., TONO, T., KAWAHARA, H. Purification and properties of polyphenol oxidase from in head lettuce (*Lactuca sativa*). *J. Sci. Food Agric.*, 55:643-651, 1991.
- FUJITA, S., SAARI, N., MAEGAWA, M., TESTUKE, T., HAYASHI, N., TONO, T., Purification and properties of polyphenol oxidase from cabbage (*Brassica oleracea* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 43:1138-1142, 1995.
- GALLIARD, T., MATTHEWS, J.A., FISHWICK, M.J., WRIGHT, A.J. The enzymic degradation of lipids resulting from physical disruption of cucumber fruit. *Phytochem.*, 15:1731-1734. 1976.
- GOUPY, P. AMIOT, M.J., RICHARD-FORGET, F., DUPRAT, F., AUBERT, S., NICOLAS, J. Enzymatic browning of model solutions and apple phenolic extracts by apple poliphenoloxidase. *J. Food Soc.*, 60:479-501. 1995.
- HYODO, H., TANAKA, K. YOSHISAKA, J. Induction of 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid syntase in wounded mesocarp tissue of winter squash fruit, and the effects of ethylene. *Plant Cell and Physiol.*, 26:161-167. 1985.
- HEATON, J.W., MARANGONI, A.G. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. *Trends Food Sci. Tech.*, 7:8-15. 1996.

- IZUMI, H., WATADA, A.E., DOUGLAS, W. Optimum O₂ or CO₂ atmosphere for storing broccoli florets at various temperatures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121(1):127-131. 1996.
- KAJI, H., UENO, M., OSAJIMA, Y., Storage of shredded cabbage under a dynamically controlled atmosphere of high O₂ and high CO₂. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57(7):1049-1052, 1993.
- KADER, A.A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technol.*, 40(5):99-104. 1986.
- KADER, A.A., ZAGORY, D., KERBEL, E.L. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, 28(1):1-30. 1989.
- KATO-NOGUSHI, H., WATADA, A.E. Regulation of glycolytic metabolism in fresh-cut carrots under low oxygen atmosphere. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121(1):123-126. 1996a.
- KATO-NOGUSHI, H., WATADA, A.E. Low-oxygen atmosphere increases fructose 2,6-bisphosphatase in fresh-cut carrots. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121(2):307-309. 1996b.
- KAYS, S.J. Postharvest physiology of perishable plant products. Van Nostrand Reinhold. New York, 1991. 532p.
- KE, D., SALTVEIT, Jr., M.E. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. *Physiol. Plant.*, 76:412-418. 1989.
- KLEIN, B.P. Nutritional consequences of minimal processing of fruits and vegetables. *J. Food Qual.*, 10:179-193. 1987.
- KO, N.P., WATADA, A.E., SCHLIMME, D.V. BOUWKAMP, J.C. Storage of spinach under low oxygen atmosphere above the extinction point. *J. Food Sci.*, 61(2):398-400, 406. 1996.
- KURILICH A.C., TSAU, G.J., BROWN, A., HOWARD, L., KLEIN, B.P., JEFFERY, E.H., KUSHAD, M., WALLIG, M.A., JUVIK, J. A. Carotene, tocopherol and ascorbic acid contents in subspecies of *Brassica oleracea*. *J. Agric. Food Chem.*, 47(4):1576-1581. 1999.
- LESHUK, J.A., SALTVEIT, M.A. Jr, A simple system for the rapid determination of the anaerobic compensation point of plant tissue. *HortScience*, 25(4):480-482, 1990.
- LÓPEZ-GÁLVEZ, SALTVEIT, M., CANTWELL, M. The visual quality of minimally processed lettuces stored in air or controlled atmosphere with

- emphasis on romaine and iceberg types. *Posth. Biol. Technol.*, 8:179-190. 1996.
- LYONS, J.M. Chilling injury in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 24:445-466. 1973.
- MARKHART III, A.H. Chilling injury: a review of possible causes. *HortScience*, 21(6):1329-1333. 1986.
- MARTH, E.H. Extended shelf life refrigerated foods: microbiological quality and safety. *Food Tech.*, 52(2):57-62. 1998.
- MATILE, P., HÖRTENSTEINER, S., THOMAS, H., KRÄUTLER, B. Chlorophyll breakdown in senescent leaves. *Plant Physiol.*, 112:1043-1049. 1996.
- MAZLIAK, P. Plant membrane lipids: changes and alterations during ageing and senescence. In: LIEBERMANN, M. (Ed.) *Postharvest Physiology and Crop Preservation*. Plenum Press, New York, pp. 1213-140. 1983.
- McEVILY, A. J., IYENGAR, R. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, 32(3):253-273. 1992.
- McLAUGHLIN, C.P., O'BEIRNE, D. Respiration rates of dry coleslaw mix as affected by storage temperature and respiratory gas concentrations. *J. Food Sci.*, 64(1): 116-119. 1999.
- MOLEYAR, V., NARASIMHAM, P. Modified atmosphere packaging of vegetables: an appraisal. *J. Food Sci. Technol.*, 31(4):267-278. 1994.
- PALOU, E., LÓPEZ-MALO, A., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., WELTI-CHAVES, J., SWANSON, B.G. Polyphenol oxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *J. Food Sci.*, 64:42-45, 1999.
- PEÑARRUBIA, I., MORENO, J. Senescence in plants and crops. In: PESSARAKLI, M. (Ed) *Handbook of plant and crop physiology*. Marcel Dekker, Inc, New York, p.461-481. 1994.
- RIVAS, N.J., WHITAKER, J.R. Purification and some properties of two polyphenol oxidase from barlett pears. *Plant Physiol.*, 52:501-507, 1973.
- ROLLE, R., CHISM, G.W., Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Quality*, 43:274-276. 1987.
- SAKR, S., NOUBAHNI, M., BOURBOULOUX, A., RIESMEIER, J., FROMMER, W.B., SAUER, N., DELROT, S. Cutting, ageing and expression of plant membrane transporters. *Bioch. Bioph. Acta*, 1330:207-213. 1997.
- SAPERS, G.M., MILLER, R.L. MILLER, F.C., COOKE, P.H., CHOI, S. Enzymatic browning control in minimally processed mushrooms. *J. Food Sci.*, 59:1042-1047. 1994.

- SCHLIMME, D.V., ROONEY, M.L. Packaging of minimally processed fruits and vegetables. In: WILEY, R.C. (Ed) *Minimally processed refrigerated fruits & vegetables*. Chapman & Hall. London. 135-182p. 1994.
- SCHLIMME, D.V. Marketing lightly processed fruits and vegetables. *HortScience* 30(1):15-17. 1995.
- SILVA, E.O., *Efeito da embalagem plástica e da temperatura sobre a qualidade pós-colheita do mamão*. Viçosa, MG, UFV, 1995. (Tese M.S.)
- SIMONS, L.K., SANGUANSRI, P. Advances in the washing of minimally processed vegetables. *Food Aust.*, 49:75-80, 1997.
- SOLOMOS, T. Some biological and physical principles underlying modified atmosphere packaging. In: WILEY, R.C. (Ed) *Minimally processed refrigerated fruits & vegetables*. Chapman & Hall. London. 183-225p. 1994.
- SOUZA, R.A.M.; SILVA, R.O.P.; MANDELLI, C.S.; TASCOS, A.M.P. Comercialização Hortícola: Análise de alguns setores do mercado varejista de São Paulo. *Informações Econômicas*, SP, 28(10):7-23. 1998.
- TAKAHASHI, T., ABE, K., CHACHIN, K., Effect of air-exposure at low temperature on physiological activities and browning of shredded cabbage. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 43(6):663-667, 1996.
- VAROQUAUX, P., MAZOLLIER, J., ALBAGNAC, G. The influence of raw material characteristics on the storage life of fresh-cut butterhead lettuce. *Posth. Biol. Technol.*, 9:127-139. 1996.
- VAUGHN, K.C., DUKE, S.O. Function of polyphenol oxidase in higher plants. *Physiol. Plant.*, 60:106-112. 1984.
- WALKER, J.R.L., Enzymatic Browning in Fruits - Its Biochemistry and Control. In: LEE, C.Y., WHITAKER, J.R. (Ed). Enzymatic browning and its prevention. Washington, DC, American Chemical Society, 1995. p.8-22.
- WATADA, A.E., ABE, K., YAMUCHI, N. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. *Food Tech.*, 44:116-122. 1990.
- WATADA, A.E., KO, N.P. MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Posth. Biol. Tech.*, 9:115-126. 1996.
- WATADA, A.E., KI, L., Quality of fresh-cut produce. *Posth. Biol. Technol.*, 15:201-205. 1999.
- WHITAKER, J.R., LEE, C.Y. Recent advances in chemistry of enzymatic browning – Na overview. In: LEE, C.Y., WHITAKER, J.R. (Ed). Enzymatic browning and its prevention. Washington, DC, American Chemical Society, 1995. p.2-7.

- WILLS, R.H., LEE, T.H., HALL, E.G. *Postharvest – an introduction to the physiology and handling of fruits and vegetables*. Westport, AVI, 1981. 160p.
- WISE, R., NAYLOR, A.W. Chilling enhanced phooxidation. The peroxidase destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultraestructure. *Plant Physiol.*, 83:272-277. 1987.
- YANG, S.F. Biosyntesis and action of ethylene. *HortScience*, 20(1):41-45. 1985.
- YAMAUCHI, N., WATADA, A.E. Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. *J. Amer. Hort. Sci.*, 116:58-62. 1991.
- YANO, M. SAIJO, R. New preservation method for sheredded cabbage with special reference to nonbrowning cultivar. *J. Jpn. Soc. Cold Preserv. Food*, 13:11-15. 1987.
- YU, Y.B., YANG, S.F. Biosynthesis of wound ethylene. *Pant Physiol.*, 66:281-285. 1980.
- YU, Y.B., YANG, S.F. Auxin-induced ethylene production and its inhibition by amino ethoxi vinil glycine and cobalt ions. *Plant Physiol.*, 64:1074-1077. 1979.
- ZAGORY, D., KADER, A.A. Modified atmosphere packaging of fresh produce. *Food Technol.*, 42(9):70-77. 1988.
- ZAWITOWSKI, J., BILIADERIS, C.G., ESKIN, N.A.M., Polyphenol oxidase. In: ROBISON, D.S., ESKIN, N.A.M. (Ed). *Oxidative enzimes in foods*. Elsevier Applied Science, 1992. P.217-273.