

**KELEM SILVA FONSECA**

**AMARELECIMENTO DO PALMITO DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes* Kunth)  
MINIMAMENTE PROCESSADO CONSERVADO SOB REFRIGERAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2016**

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

F676a  
2016  
Fonseca, Kelem Silva, 1986  
Amarelecimento do palmito de pupunha (*Bactris gasipaes*  
Kunth) minimamente processado conservado sob refrigeração /  
Kelem Silva Fonseca. Viçosa, MG, 2016.  
ix, 55f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Rolf Puschmann.

Tese (doutorado) Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.50-55.

1. Pupunheira. 2. Tecidos vegetais. 3. Metabólitos.  
4. Fenóis. 5. Palmito Processamento. 6. Palmito  
Conservação. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento  
de Biologia Vegetal. Programa de Pós graduação em Fisiologia  
Vegetal. II. Título.


CDD 22. ed. 634.9745

KELEM SILVA FONSECA


**AMARELECIMENTO DO PALMITO DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes*  
Kunth) MINIMAMENTE PROCESSADO CONSERVADO SOB  
REFRIGERAÇÃO**


Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

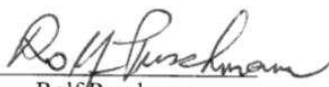
APROVADA: 25 de fevereiro de 2016.

  
\_\_\_\_\_  
Maria Helena Nasser Brumano

  
\_\_\_\_\_  
Milton E. Pereira Flores

  
\_\_\_\_\_  
Dimas Mendes Ribeiro  
(Coorientador)

  
\_\_\_\_\_  
Edgard Augusto de Toledo Picoli  
(Coorientador)

  
\_\_\_\_\_  
Rolf Puschmann  
(Orientador)

A Deus e aos meus pais, Lúcia e Osmane,

DEDICO!

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por permitir a realização de mais esta etapa da minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa, por todo apoio e infraestrutura na realização dos experimentos, em especial ao Departamento de Biologia Vegetal e Departamento de Tecnologia de Alimentos.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Ao Núcleo de Análise de Biomoléculas da Universidade Federal de Viçosa por fornecer as instalações para a realização dos experimentos.

Ao professor Rolf Puschmann, pela orientação, paciência, suporte e por compartilhar seu conhecimento.

Ao Milton Edgard Pereira Flores grande incentivador.

Aos co-orientadores Adriano Nunes-Nesi, Edgard Augusto de Toletto Picoli e Dimas Mendes Ribeiro, pelos conselhos e sugestões para melhoria deste trabalho.

Ao senhor Geraldo Magela Queiroz Botelho, pela doação da matéria-prima e ao senhor José Maria pela gentileza e disponibilidade em colher as hastes de palmito.

Aos meus pais, Lúcia e Osmane, pelo amor e incentivo.

Ao meu irmão Gu, pelo amor e torcida em todos os momentos.

Aos meus amigos Aline, Alessandra, Diego, Luana, Lucilene, Naiara e Tania pela amizade, paciência, ajuda e presença constante em todos os momentos.

Aos estagiários, Gilmara, Luana e Pedro Henrique que muito ajudaram na realização deste trabalho.

À toda minha família montesclarensense e viçosense.

## **BIOGRAFIA**

KELEM SILVA FONSECA, filha de José Osmane da Fonseca e Maria Lúcia Silva Fonseca, nasceu no dia 18 de junho de 1986, em Montes Claros, Minas Gerais.

Em dezembro de 2009 graduou-se em Agronomia pela Universidade Estadual de Montes Claros, em Janaúba, MG.

Em março de 2010, ingressou no programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, MG, submetendo-se a defesa da dissertação em fevereiro de 2012. Em março, desse mesmo ano, iniciou o curso de Doutorado dessa mesma instituição e programa, submetendo-se à defesa de tese em fevereiro de 2016.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>ix</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Material vegetal e processamento mínimo.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Etapa 1: Efeito de concentrações de cloro ativo na intensificação do amarelecimento superficial dos tecidos das regiões mediana e basal da haste de palmito de pupunha .....</b>	<b>8</b>
2.2.1 Massa fresca .....	8
2.2.2 Cor.....	9
2.2.3 Delineamento experimental e Análise estatística.....	9
<b>2.3 Etapa 2: Quantificação e identificação de compostos fenólicos .....</b>	<b>10</b>
2.3.1 Compostos fenólicos solúveis totais .....	12
2.3.2 Análise anatômica: teste histoquímico e análise estrutural .....	12
2.3.3 Delineamento experimental e Análise estatística.....	13
<b>2.4 Etapa 3: Simulação dos eventos de amarelecimento por estímulo físico .....</b>	<b>13</b>
2.4.1 Delineamento experimental e Análise estatística.....	13
<b>2.5 Etapa 4: Perfil metabólico durante a conservação refrigerada .....</b>	<b>14</b>
2.5.1 Proteína total .....	14
2.5.2 Determinação dos metabólitos .....	14
2.5.3 Delineamento experimental e Análise estatística.....	15
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 Etapa 1: Efeito de concentrações de cloro ativo na intensificação do amarelecimento superficial dos tecidos das hastes de palmito de pupunha .....</b>	<b>16</b>
3.1.1 Perda de massa fresca.....	16
3.1.2 Cor superficial .....	17
<b>3.2 Etapa 2: Quantificação e identificação de compostos fenólicos .....</b>	<b>23</b>
3.2.1 Cor superficial .....	23
3.2.2 Compostos fenólicos solúveis totais .....	25
3.2.3 Análise histoquímica .....	26

3.2.4 Análise anatômica estrutural .....	28
<b>3.3 Etapa 3: Simulação dos eventos de amarelecimento por estímulo físico .....</b>	<b>31</b>
3.3.1 Cor superficial.....	31
3.3.2 Análise anatômica estrutural .....	34
<b>3.4 Etapa 4: Perfil metabólico durante a conservação refrigerada .....</b>	<b>36</b>
3.4.1 Perda de massa fresca.....	36
3.4.2 Proteína total .....	38
3.4.3 Alterações metabólicas.....	39
<b>4. CONCLUSÕES .....</b>	<b>49</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>50</b>

## RESUMO

FONSECA, Kelem Silva, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **Amarelecimento do palmito de pupunha (*Bactris gasipaes kunth*) minimamente processado conservado sob refrigeração.** Orientador: Rolf Puschmann. Coorientadores: Adriano Nunes Nesi, Dimas Mendes Ribeiro e Edgard Augusto de Toledo Picoli.

O palmito de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) é o mais indicado para o processamento mínimo, pois não apresenta escurecimento enzimático. No entanto, outros fatores podem resultar em alterações e mudança da cor dos tecidos. Objetivou-se com este trabalho caracterizar a(s) possível (eis) causa(s) do amarelecimento superficial das regiões mediana e basal de hastes de palmito de pupunha minimamente processadas e conservadas sob refrigeração. Essa investigação foi realizada em quatro etapas: Etapa 1- Foi avaliado o efeito de duas concentrações de cloro ativo, 20 e 200 mg L<sup>-1</sup>, sobre a intensificação do amarelecimento superficial dos tecidos das regiões mediana e basal da haste de palmito de pupunha; Etapa 2- O conteúdo de compostos fenólicos foi quantificado na bainha externa e raque da região mediana e nas regiões externa e interna da região basal durante a conservação refrigerada; Etapa 3: Avaliou-se o efeito de injúrias mecânicas sobre alterações na cor e qualidade dos tecidos das regiões mediana e basal e Etapa 4- Alterações metabólicas dos tecidos das regiões mediana e basal foram acompanhadas durante o período de refrigeração. Em todas as etapas foi realizado o processamento mínimo das hastes de palmito, com algumas modificações quando necessário: lavagem e retirada das bainhas de proteção, corte (separação das regiões mediana e basal), sanitização, drenagem e embalagem. As regiões foram conservadas a 5 °C, por 12 dias. Observou-se que os tecidos das regiões mediana e basal apresentaram coloração amarelada durante 12 dias de conservação refrigerada. No entanto, esse amarelecimento superficial não ocorreu de maneira homogênea nos tecidos. Além disso, as alterações na cor original dos tecidos não se correlacionaram negativamente com as concentrações de cloro ativo utilizadas, bem como não foi observado aumento do teor de compostos fenólicos após o período de refrigeração. Verificou-se diferença qualitativa na organização das camadas de tecidos fundamentais e de revestimento do palmito que podem influenciar a cor superficial dos tecidos. Observou-se alterações no perfil de metabólitos durante a conservação refrigerada.

Em resumo, os resultados sugerem que o amarelecimento superficial dos tecidos pode ser causado por uma interação dos fatores estudados. Ademais, outros fatores tais como pré-colheita, estado hídrico da planta e condições climáticas de cultivo poderiam atuar no amarelecimento superficial dos tecidos.

## ABSTRACT

FONSECA, Kelem Silva, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **Yellowing of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) minimally processed stored under cold storage.** Adviser: Rolf Puschmann. Co-advisers: Adriano Nunes Nesi, Dimas Mendes Ribeiro and Edgard Augusto de Toledo Picoli.

Palm of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) is the most suitable for the minimal processing because does not display enzymatic browning. However, other factors may lead to changes and color variation in the tissues. This study aimed to identify the possible causes of superficial yellowing of the median and basal regions of peach palm stems minimally processed and stored under refrigeration. This research was conducted in four stages: Stage 1- The effect of two active chlorine concentrations, 20 and 200 mg L<sup>-1</sup> on improving the superficial yellowing of tissues median and basal regions of the peach palm stem; Stage 2- The content of phenolic compounds was quantified in the outer sheath and rachis of the median region and the outer and inner regions of the basal region during cold storage; Stage 3: It was evaluated the effect of mechanical injuries on changes in the color and quality of tissues from the median and basal regions and Stage 4- Metabolic changes of the tissues of the median and basal regions were accompanied during the cooling period. At every stage we performed the minimal processing of palm stems, with some modifications as needed: washing and removal of the protective sheaths, cutting (separating the median and basal regions), sanitization, drainage and packaging. The regions were stored at 5 °C for 12 days. It was observed that the tissues of the median and basal regions showed yellowing after 12 days of cold storage. However, this superficial yellowing did not occur evenly in the tissue. In addition, changes in the original color of the tissues were not associated negatively with the active chlorine concentrations and was not observed increased content of phenolic compounds after cold storage period. It is qualitative difference in the organization of the layers of core and coating material tissue's palm that can influence the color of the surface tissues. Observed changes in metabolite profile during cold storage. In summary, the results suggest that the surface yellowing of the fabrics can be caused by an interaction of the factors studied. In addition, other factors such as pre-harvest water status of the plant and climatic growing conditions could impact surface yellowing of tissues.

## 1. INTRODUÇÃO

O cultivo da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth), palmeira originária da Amazônia e pertencente à família Arecaceae, vem aumentando continuamente em importância. De acordo com os dados do IBGE (2016), no intervalo de seis anos, a produção desta palmeira duplicou, passando de aproximadamente 70.000 t em 2009 para cerca de 146.000 t em 2014. O aumento no interesse do palmito deve-se à existência de mercado em nível mundial e disponibilidade de tecnologia para seu cultivo e industrialização (ANEFALOS et al., 2007; CLEMENTE & MORA, 2002).

Apesar da expansão do mercado internacional do palmito, as exportações brasileiras não são significativas devido ao palmito brasileiro apresentar baixa qualidade e ser um produto não ecológico, pois o seu mercado é sustentado pelo corte de palmeiras nativas (SAMPAIO et al., 2007). A baixa qualidade do palmito resulta do processo de extrativismo, pois com a redução dos estoques de plantas, a extração é realizada em palmeiras ainda jovens e de tamanhos irregulares (SAMPAIO et al., 2007). O aumento do interesse pelo cultivo da pupunha surge como opção para atender a demanda interna e externa, especialmente para a produção de palmito.

O potencial da pupunheira para a produção de palmito cultivado é considerado maior que o das palmáceas utilizadas para tal finalidade (ARAÚJO, 1993). Esta apresenta vantagens em relação às outras palmeiras nativas como açaí (*Euterpe oleraceae* Martius) e juçara (*Euterpe edulis* Martius); precocidade, facilidade nos tratamentos culturais, perfilhamento da planta mãe, lucratividade, segurança para o produtor, vantagens ecológicas, aproveitamento dos frutos para indústria alimentícia (sucos e sorvetes) e principalmente a qualidade do palmito produzido (BERNHARDT, 1999; NISHIKAWA et al., 1998; MORO, 1996; YUYAMA, 1996).

Mudanças nos padrões de alimentação têm levado ao maior consumo de frutas e hortaliças, sendo que o consumidor busca por alimentos saudáveis, de qualidade e praticidade (ALVES et al., 2010). Os produtos minimamente processados são uma alternativa à procura pelos consumidores, oferecendo produtos convenientes, altamente nutritivos e saudáveis, mantendo o frescor das frutas e hortaliças *in natura* (SIMÓN et al., 2005).

As hortaliças são consideradas minimamente processadas quando fisicamente alteradas, porém permanecendo no estado fresco. O palmito minimamente processado é definido como comestível após a extração das bainhas frescas de proteção (KAPP et al.,

2003; CLEMENT et al, 1999). O preparo do palmito, mesmo sendo mínimo, produz destruição de tecidos, facilita a contaminação microbiana, provoca liberação de enzimas e de seus substratos, propiciando a ocorrência de reações enzimáticas que podem alterar as características sensoriais dos produtos (CLEMENT et al., 1999).

A haste da pupunha é apropriada para ser minimamente processada por não apresentar, após o corte, o escurecimento característico da ação de enzimas oxidativas (CHAIMSOHM, 2000), fato que, além de facilitar os procedimentos operacionais no momento da industrialização, permite a exploração da comercialização do palmito *in natura* com o mínimo de processo. Esta nova opção de consumir o palmito estimula o mercado, por ser um produto natural, cuja textura, aparência e sabor são muito atrativos em relação ao palmito em conserva industrial (HOJEIJE, 2006; MORO, 1996; YUYAMA, 1996).

O palmito de pupunha, apesar da ausência de escurecimento enzimático, apresenta alta perecibilidade por ser constituído de tecido caulinar e foliar em desenvolvimento inicial. A perecibilidade de frutas e hortaliças é diretamente proporcional à sua atividade respiratória e é variável entre as diferentes estruturas morfológicas e estádios de desenvolvimento. Caules em crescimento e tecidos florais apresentam maiores taxas respiratórias que frutos imaturos ou maduros, tubérculos, bulbos e raízes; em ordem decrescente. Tecidos meristemáticos, que compõem o palmito como o palmito e aspargos têm taxas respiratórias mais elevadas do que tecidos maduros (KADER, 1987).

O palmito de pupunha em poucos dias após o descasque e corte apresenta coloração amarela na superfície dos tecidos o que torna inviável a comercialização. Do mesmo modo, Pedroza (2013) e Fonseca (2012) observaram amarelecimento dos tecidos de palmito de pupunha mesmo ao armazená-los em ambiente refrigerado a 5 °C, temperatura recomendada para conservação de produtos minimamente processados.

Geralmente, as alterações na cor de produtos minimamente processados ocorrem pela atuação de enzimas oxidativas, como a polifenoloxidase (PFO; monofenol, diidroxifenilalanina: O<sub>2</sub> oxidoredutase EC 1.14.18.1). Os compostos fenólicos são oxidados pela PFO produzindo quinonas, que rapidamente se polimerizam, tanto com elas mesmas quanto com aminoácidos ou proteínas, formando complexos heterogêneos de alto peso molecular, geralmente chamadas de melaninas ou melanoidinas, que usualmente são marrons, mas podem ser amarelas, vermelhas, pretas, azuis, ou várias combinações destas, resultando assim em colorações diferentes dependendo do vegetal e

dos substratos fenólicos envolvidos na reação (PEÑALVER et al., 2005; ESPÍN et al., 1998).

Com o intuito de investigar as possíveis causas do amarelecimento do palmito de pupunha minimamente processado, Pedroza (2013) caracterizou o perfil e atividade da polifenoloxidase e peroxidase, além de utilizar o metabissulfito como inibidor das enzimas oxidativas. A autora concluiu que estas enzimas não são as responsáveis pelo amarelecimento do palmito, uma vez que suas atividades são muito baixas e que a ausência de mudanças expressivas na cor ocorreu independentemente da inibição ou não das enzimas oxidativas.

Os sanitizantes a base de cloro têm sido habitualmente utilizados na desinfecção superficial de produtos minimamente processados (SIMÕES et al., 2010; SOLIVA-FORTUNY & MARTÍN-BELLOSO, 2003), porém, não é conhecido se o contato dos mesmos com os tecidos do palmito pode alterar a cor superficial e intensificar o amarelecimento. Sendo assim, a utilização de soluções sanitizantes contendo cloro ativo pode influenciar mudanças na coloração dos tecidos durante a conservação refrigerada.

A soma dos estresses mecânicos (remoção de bainhas, separação do palmito caulinar do foliar e manipulação) decorrentes do processamento mínimo, pode causar alterações metabólicas nos tecidos vegetais, induzindo processos oxidativos, como oxidação de compostos fenólicos e, conseqüentemente, alterações na cor do palmito. Os compostos fenólicos são considerados como metabolitos secundários que são sintetizados por plantas durante o desenvolvimento normal e, em resposta a condições de estresse, tais como infecções, ferimentos ou radiação UV, entre outros (NACZK & SHAHIDI, 2004). O manuseio durante o processamento mínimo pode induzir a aumentos na atividade da enzima polifenoloxidase, oxidando os compostos fenólicos a quinonas, que rapidamente se polimerizam, tanto com elas mesmas quanto com aminoácidos ou proteínas, formando pigmentos escuros insolúveis responsáveis pelo escurecimento dos tecidos (ARAÚJO, 2011).

Deste modo, torna-se necessário entender as alterações anatômicas e metabólicas que ocorrem em palmito de pupunha minimamente processado, com intuito de identificar as possíveis causas do amarelecimento dos tecidos.

A aplicação de metabolômica no setor de alimentos permite proporcionar visão detalhada sobre as variações na composição dos alimentos e as implicações organoléptica, nutritiva e conteúdo benéfico para a saúde (BELEGGIA et al., 2011; KIM et al., 2016 ). Nesse sentido, uma melhor compreensão das alterações metabólicas pode

revelar fatores potenciais envolvidos no amarelecimento do palmito de pupunha minimamente processado. Diversas técnicas têm sido empregadas na metabolômica, incluindo a cromatografia gasosa - espectrometria de massa (GC-MS), a cromatografia líquida - espectrometria de massa (LC-MS) e a espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) (ROESSNER & BOWNE, 2009; FIEHN, 2002).

Pesquisas sobre conservação de palmito de pupunha minimamente processado realizadas no laboratório de Fisiologia Pós-colheita do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa demonstraram aparente estabilidade físico-química de diferentes cortes de palmito, porém a sua vida-útil é de apenas 12 dias, sendo o amarelecimento dos tecidos um fator relevante que contribui para a perda de qualidade visual do produto, uma vez que compromete a aparência. Deseja-se conservá-lo por no mínimo três a quatro semanas, sem mudanças da cor, visando à ampliação da sua distribuição e exportação.

Assim, considera-se relevante o estudo para caracterizar a(s) possível (eis) causa(s) do amarelecimento superficial das regiões mediana e basal de hastes de palmito de pupunha minimamente processadas conservadas sob refrigeração.

Portanto, os objetivos específicos deste trabalho foram: 1) Avaliar o efeito de cloro ativo sobre a intensificação do amarelecimento superficial dos tecidos das regiões mediana e basal da haste de palmito de pupunha; 2) Quantificar o conteúdo de compostos fenólicos da bainha externa e raque da região mediana e das regiões externa e interna da região basal de palmito de pupunha durante conservação refrigerada; 3) Avaliar o efeito de injúrias mecânicas sobre alterações na cor e qualidade dos tecidos das regiões mediana e basal da haste do palmito de pupunha; 4) Avaliar as alterações no perfil metabólico dos tecidos durante a conservação refrigerada.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida em quatro etapas:

**Etapa 1:** Efeito de concentrações de cloro ativo na intensificação do amarelecimento superficial dos tecidos das regiões mediana e basal da haste de palmito de pupunha.

**Etapa 2:** Quantificação e identificação de compostos fenólicos solúveis totais.

**Etapa 3:** Simulação dos eventos de amarelecimento superficial por estímulo físico.

**Etapa 4:** Perfil metabólico durante a conservação refrigerada.

A parte experimental da pesquisa foi realizada na Unidade de Processamento Mínimo e nos laboratórios de Fisiologia Pós-colheita e Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal e no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG.

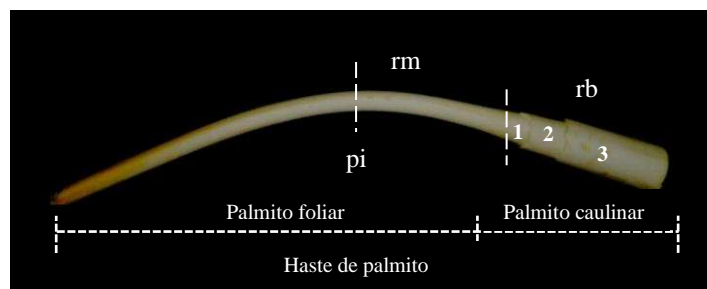
### 2.1 Material vegetal e processamento mínimo

Palmitos de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) foram obtidos, em uma propriedade particular no Município de Teixeira-MG, localizada a 20°39' 03'' S 42° 51'25'' O, sendo o índice pluviométrico médio anual dessa região 1221,4 mm. Hastes foram colhidas, sendo o ponto de colheita adotado a altura das plantas entre 1,70 e 1,90 m, diâmetro na base entre 9 e 13 cm (EMBRAPA, 2004), observando-se também a folha espada ou folha-flecha (folha mais nova e comprida), que deveria estar fechada ou no máximo iniciando sua abertura (PEREIRA-FLORES et al., 2011). Após corte da planta, foi feita a primeira retirada de bainhas, deixando-se apenas duas, antes de transportá-las.

As hastes foram transportadas para a Unidade de Processamento Mínimo da Universidade Federal de Viçosa, UFV. Na área de recepção, as hastes foram padronizadas em 70 cm a partir do terceiro entrenó, lavadas com sabão neutro, descascadas, retirando-se as bainhas de proteção restantes, e cortadas separando-se o

palmito caulinar, constituído pelos três primeiros entrenós, do palmito foliar, constituído pela região meristemática, considerada região nobre (Figura 1).

A denominação e identificação das regiões foram realizadas de acordo com Fonseca (2012), após identificação do ponto de inflexão. Esta técnica consiste em empunhar a haste pelas suas extremidades e observar a formação de um arco. O ponto máximo do arco permitiu a identificação visual do ponto de inflexão ou ponto de menor resistência. Foi denominado de região mediana o segmento do palmito compreendido entre a parte superior do entrenó mais jovem e um ponto a três centímetros acima do ponto de inflexão e a extremidade restante contendo os três entrenós mais jovens como região basal, correspondente ao palmito caulinar (Figura 1).

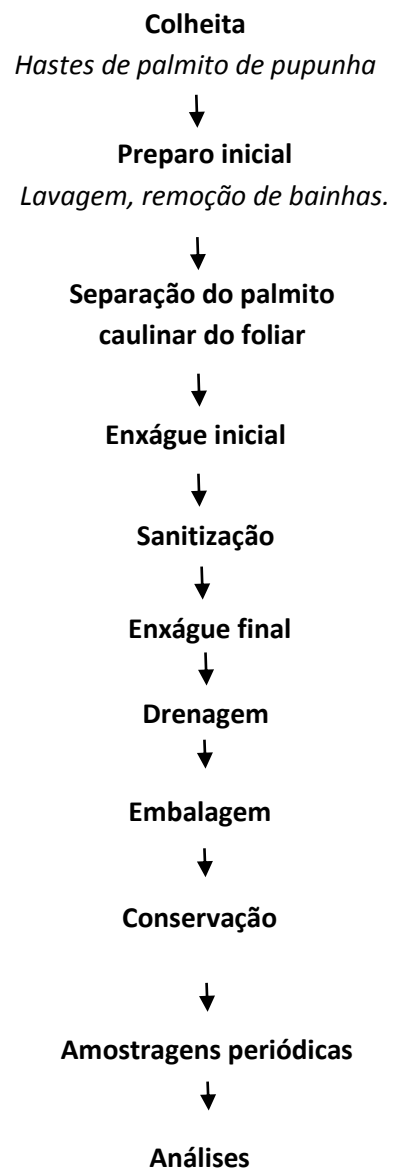


**Figura 1.** Regiões da haste do palmito de pupunha. pi, ponto de inflexão; rm, região mediana; rb, região basal; 1, primeiro entrenó; 2, segundo entrenó; 3, terceiro entrenó.

Nas etapas 1 e 2 da pesquisa, a região mediana, cerca de 25 cm, foi mantida inteira e a região basal foi utilizada apenas o segundo entrenó, descartando-se o primeiro e o terceiro. Nas etapas 3 e 4, a região mediana foi fragmentada em segmentos de 8 cm e a basal, segundo entrenó, mantida inteira como nas etapas 1 e 2. Em seguida, as regiões foram imersas em água a 5 °C, para remover o suco celular extravasado. Após isso, foram sanitizadas em água em torno de 6 °C, contendo 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo durante 10 min, seguido de enxágue em água gelada contendo 5 mg L<sup>-1</sup> de cloro por 5 min.

Posteriormente a etapa de sanitização, as regiões da haste foram drenadas por aproximadamente 20 min em bandejas perfuradas de plástico. Após a drenagem, foram envoltas em filme PVC (etapa 1) ou embaladas em bandejas de poliestireno revestidas por filme PVC (etapas 2, 3 e 4). As amostras em todas as etapas foram mantidas a 5 °C para posteriores análises.

O processamento mínimo descrito acima foi realizado em todas as etapas da pesquisa, com algumas modificações quando necessário.



**Figura 2.** Processamento mínimo de palmito de pupunha e procedimentos posteriores.

## **2.2 Etapa 1: Efeito de concentrações de cloro ativo na intensificação do amarelecimento superficial dos tecidos das regiões mediana e basal da haste de palmito de pupunha**

As regiões mediana e basal do palmito de pupunha minimamente processadas como descrito anteriormente foram submetidas a quatro tratamentos. Estes foram aplicados após a separação do palmito foliar (região mediana) do palmito caulinar (região basal), ou seja, em substituição a etapa de sanitização.

Tratamento 1: Controle 1. Imersão por 10 min em água gelada, cerca de 6 °C, seguido de enxágue por 5 min em água gelada.

Tratamento 2: Controle 2. Imersão por 10 min em água gelada, cerca de 6 °C, seguido de enxágue por 5 min em água gelada.

Tratamento 3: Imersão em solução contendo 20 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo durante 10 min seguido de enxágue em solução com água, cerca de 6 °C, contendo 5 mg L<sup>-1</sup> de cloro por 5 min.

Tratamento 4: Imersão em solução contendo 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo durante 10 min seguido de enxágue em solução com água, cerca de 6 °C, contendo 5 mg L<sup>-1</sup> de cloro por 5 min.

Após a aplicação dos tratamentos, as amostras foram drenadas por aproximadamente 20 min. Amostras do tratamento 1 foram mantidas sem embalagem e as amostras dos tratamentos 2, 3 e 4 envoltas em filme PVC. Posteriormente, todas as amostras foram conservadas a 5 °C. Avaliações não destrutivas de massa fresca e cor foram realizadas a cada dois dias durante 12 dias.

### **2.2.1 Massa fresca**

A massa fresca foi obtida por pesagem a cada dois dias e a perda de massa fresca foi calculada pela diferença entre a massa inicial e final das unidades amostrais das regiões minimamente processadas, utilizando balança semi-analítica. Os dados foram transformados em perda de massa fresca acumulada. Foi utilizada a seguinte fórmula para determinar a perda de massa fresca entre dois intervalos de avaliação:

$$PMF = ((MFI-MFF) \times 100) / MFI$$

Sendo:

PMF = Perda de massa fresca, %

MFI = Massa fresca inicial, g

MFF = Massa fresca final, g

### **2.2.2 Cor**

Alterações na cor foram acompanhadas, durante o período de conservação refrigerada, a cada dois dias, com o auxílio de um colorímetro portátil Minolta CR-400 e de uma câmera fotográfica Sony, modelo DSC-H70, sob condições padronizadas. As medições foram feitas em pontos fixos ao longo das superfícies das regiões de acordo o modelo tridimensional de coordenadas cromáticas preconizadas pelo Cielab (sistema L\*, a\*, b\*). O valor de L\* representa a luminosidade da cor (0 indica preto e 100 indica branco), a coordenada a\* indica a posição da cor entre verde (-a) e vermelho (+a), e a coordenada b\* indica a cor entre azul (-b) e amarela (+b).

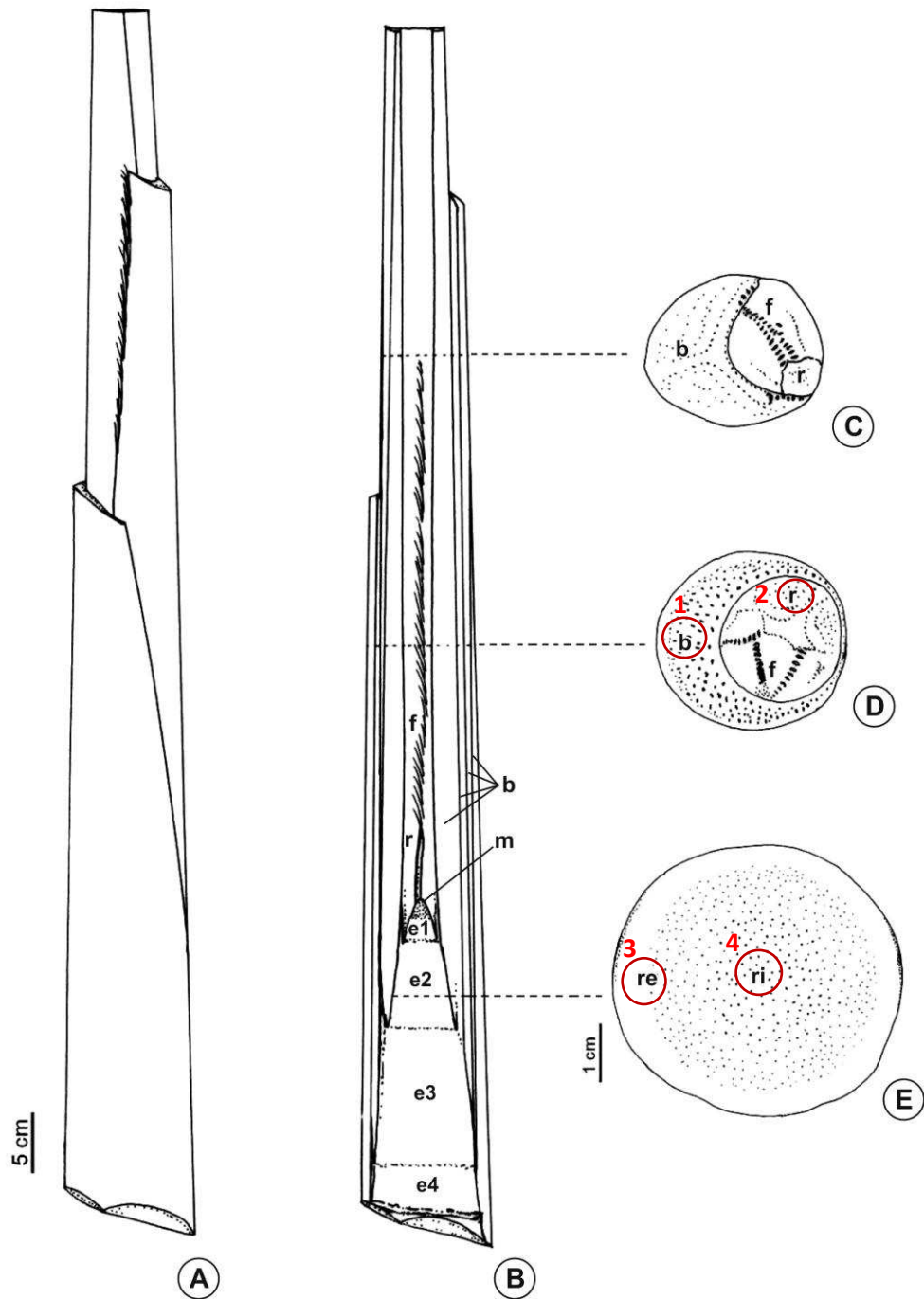
### **2.2.3 Delineamento experimental e Análise estatística**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4x7, sendo duas regiões de estudo, mediana e basal, quatro tratamentos (controle sem embalagem, controle com embalagem, imersão em solução contendo 20 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo e imersão em solução contendo 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo) e sete tempos de avaliação, 0, 2, 4, 6, 8, 10, e 12 dias, com três repetições. Cada unidade experimental foi composta por uma unidade inteira de aproximadamente 25 cm para a região mediana ou pelo segundo entrenó para região basal. Os dados referentes à massa fresca foram submetidos à análise estatística utilizando-se nos gráficos barras com o erro padrão da média. Os dados obtidos da análise de cor foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico Genes (CRUZ, 2006).

### **2.3 Etapa 2: Quantificação e identificação de compostos fenólicos**

Unidades inteiras, cerca de 25 cm de comprimento, da região mediana e o segundo entrenó da região basal de hastes de palmito de pupunha minimamente processadas como descrito no item 2.1 foram embaladas em bandejas de poliestireno expandido revestidas por filme PVC e conservadas a 5 °C por 12 dias. Alterações na cor superficial foram medidas aos 0, 6 e 12 dias com o auxílio de um colorímetro portátil digital Minolta CR-400 e câmera fotográfica Sony, modelo DSC-H70, sob condições padronizadas e sob luz ultravioleta, Vilber Lourmat (lâmpada com filtro, 1x15 watts, 365 nm, 220 v).

Após cada dia de avaliação da cor superficial foram realizadas amostragens da bainha externa e raque da região mediana e amostragens das regiões externa e interna da região basal para quantificação de compostos fenólicos totais e análises anatômicas histoquímica e estrutural (Figura 3).



**Figura 3.** Desenhos esquemáticos do palmito de pupunha inteiro (A) e em cortes longitudinal (B) e transversal (C-E), nas regiões apical (C), mediana (D) e basal (E). b, bainha; e1, primeiro entrenó; e2, segundo entrenó; e3, terceiro entrenó; e4, quarto entrenó; f, folíolo; m, meristema; r, raque; re, região externa; ri, região interna. Os círculos em vermelho apresentados em D e E representam as áreas amostradas; 1, bainha externa; 2, raque; 3, região externa; 4, região interna. Figura adaptada de Fonseca, 2012.

### **2.3.1 Compostos fenólicos solúveis totais**

Compostos fenólicos solúveis totais dos tecidos da bainha externa e raque da região mediana e das regiões externa e interna da região basal (Figura 3) do palmito de pupunha foram extraídos e quantificados pelo método de Folin Ciocalteu (SWAIN & HILLIS, 1959). Amostras de 0,5 g de tecido vegetal congelado em nitrogênio líquido foram homogeneizadas em 10 mL de etanol com o auxílio de um homogeneizador de tecidos Turrax T-18 (IKA Labortechnik). O extrato foi centrifugado a 14.000 g, por 30 min, a 22 °C. Em seguida, 0,5 mL do sobrenadante foi misturado a 2,5 mL de Folin Ciocalteu (diluído 1:3) e 2 mL de carbonato de sódio anidro a 10 %. Os tubos foram agitados e mantidos no escuro durante 1 h. As leituras da absorvância da concentração de compostos fenólicos solúveis foram feitas em espectrofotômetro a 700 nm, e os resultados expressos em  $\mu\text{g D-catequina g}^{-1}$  MF. A curva de calibração foi feita utilizando-se D-catequina como padrão.

### **2.3.2 Análise anatômica: teste histoquímico e análise estrutural**

Amostras da bainha externa e raque da região mediana e das regiões externa e interna da região basal (Figura 3) do palmito de pupunha foram fixadas em FAA<sub>50</sub> (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 50%, 5:5:18, v/v) por 48 h e mantidas em etanol 70% (JOHANSEN, 1940). As mesmas foram incluídas em metacrilato seguindo o protocolo do fabricante (Leica Historesin®). As amostras emblocadas foram seccionadas em cortes transversais e longitudinais (5  $\mu\text{m}$  de espessura) em micrótomo rotativo de avanço automático, modelo RM 2155 (LEICA Microsystems Inc.).

Para a identificação de compostos fenólicos foi realizado teste histoquímico adicionando-se aos cortes solução aquosa de cloreto férrico 10 % (JOHANSEN, 1940) e as lâminas foram montadas em água.

Para a análise estrutural utilizou-se os cortes da bainha externa da região mediana e da porção externa da região basal. Os cortes foram corados em solução de azul de toluidina 1 % (O' BRIEN et al., 1964) e as lâminas foram montadas em Permount®.

A observação e a documentação fotográfica foram realizadas em fotomicroscópio (modelo AX70RF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) equipado com câmera digital. Medições do número de camadas de parênquima e tecido de revestimento primário em

diferenciação e da espessura da camada superficial colapsada foram feitas utilizando o programa Image Pro Plus (Media Cybernetics).

### **2.3.3 Delineamento experimental e Análise estatística**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x3 sendo quatro regiões, bainha externa e raque da região mediana, regiões externa e interna da região basal e três tempos, 0, 6 e 12 dias, de conservação refrigerada com três repetições. Cada unidade experimental foi composta por uma unidade inteira de aproximadamente 25 cm para a região mediana ou pelo segundo entrenó para região basal. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico Genes (CRUZ, 2006).

## **2.4 Etapa 3: Simulação dos eventos de amarelecimento por estímulo físico**

Hastes de palmito de pupunha foram colhidas e processadas conforme descrito no item 2.1. As superfícies de segmentos de 8 cm da região mediana e o segundo entrenó da região basal foram submetidas a uma injúria induzida com compressão de 100N e 200 N, respectivamente, durante 10 s, com o auxílio de um analisador de textura Instron, modelo 3367, ponta de prova tipo cilindro (56,2 mm de diâmetro). Após isso, as amostras do tratamento controle (tecidos sem injúria intencional) e as amostras as quais receberam a compressão foram embaladas em bandejas de poliestireno expandido revestidas por filme PVC e conservadas a 5 °C durante 9 dias. Amostragens foram feitas no início e no final da conservação refrigerada para avaliação da cor superficial e para análise anatômica estrutural.

### **2.4.1 Delineamento experimental e Análise estatística**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2x2 sendo duas regiões, mediana e basal, duas intensidades de força, 0 e 100 ou 200N e dois tempos de avaliação, 0 e 9 dias, com três repetições. Cada repetição foi composta por dois segmentos de 8 cm da região mediana ou pelo segundo entrenó da região basal.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico Genes (CRUZ, 2006).

## **2.5 Etapa 4: Perfil metabólico durante a conservação refrigerada**

Segmentos de 8 cm da região mediana e o segundo entrenó da região basal de hastes de palmito de pupunha minimamente processadas como descrito no item 2.1 foram separados em dois grupos. Um grupo foi composto por amostras, das respectivas regiões, que foram embaladas em bandejas de poliestireno revestidas por filme PVC. O segundo grupo foi composto por amostras das mesmas regiões que não foram embaladas, apenas utilizou-se bandejas de poliestireno expandido como suporte para apoiar-las dentro de uma câmara fria. As amostras dos dois grupos foram conservadas a 5 °C por 12 dias.

Durante o período de conservação refrigerada a massa fresca foi pesada a cada dois dias. Amostras da bainha externa da região mediana e da porção externa da região basal (Figura 3) foram retiradas e congeladas imediatamente em nitrogênio líquido aos 0, 4, 8 e 12 dias para caracterização do perfil metabólico. Depois de coletadas, as amostras foram liofilizadas por 72 h e mantidas a -80 °C até a utilização. Foram realizadas análises de proteína total e determinação de metabólitos.

### **2.5.1 Proteína total**

Aos 0 e 12 dias de conservação refrigerada foram retiradas alíquotas de 300 mg das amostras liofilizadas e encaminhadas ao Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. A determinação do teor de proteínas foi realizada conforme as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

### **2.5.2 Determinação dos metabólitos**

A determinação dos metabólitos foi realizada como descrito por Lisec et al. (2006). Para a extração foram pesados 10 mg de amostra liofilizada em microtubos de 1,5 mL. Em cada amostra foram colocados 350 µL de metanol (Merk, 99,8% pureza) e em seguida, as mesmas foram homogeneizadas em vórtex por 10 segundos. Após isso, foram

acrescentados 30  $\mu\text{L}$  de ribitol (Sigma-Aldrich), como padrão interno, na concentração  $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$  e homogêneas novamente. As amostras foram levadas a um bloco térmico (thermomixer Comfort, Eppendorf) por 15 min a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  e centrifugadas a 14.000 rpm por 10 min. Logo depois, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. Foram adicionados 375  $\mu\text{L}$  de clorofórmio (Merk, 99,4% pureza) e 750  $\mu\text{L}$  de água ultrapura. Por fim, as amostras foram centrifugadas a 4.000 g por 15 min. Após a centrifugação, alíquotas de 25  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foram retiradas para novos tubos e levadas a um concentrador a vácuo (speedVac, Eppendorf) por sete horas, a temperatura ambiente.

A quantificação dos metabólitos foi realizada utilizando um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas do tipo TOF, GC-MS TruTOF, Leco, utilizando uma coluna (Agilent Technologies) DB-35MS 30 m x 0.32 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ , segundo Roessner (2001) e a identificação referente aos metabólitos seguiram as recomendações descritas por Fernie et al. (2011).

Os cromatogramas e os espectros de massa foram avaliados utilizando o Chroma TOF 1,0 (Leco, <http://www.leco.com/>) e software Target Search (CUADROS-INOSTROZA et al., 2009). A identificação dos metabolitos foi supervisionado manualmente usando a coleção de índice de massa espectral e retenção da base de dados Golm Metabolome (KOPKA et al., 2005). As alturas de pico dos fragmentos de massa foram normalizadas com base no peso seco de cada amostra e a quantidade adicionada de um padrão interno (ribitol).

### **2.5.3 Delineamento experimental e Análise estatística**

Os dados referentes à massa fresca foram submetidos à análise estatística utilizando-se nos gráficos barras com o erro padrão da média.

Para a determinação de proteína total foi utilizado esquema fatorial  $2 \times 2 \times 2$ , sendo duas regiões, mediana e basal, amostras embaladas e não embaladas e dois tempos de avaliação, 0 e 12 dias com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico Genes (CRUZ, 2006).

O delineamento experimental para determinação dos metabólitos foi inteiramente casualizado em esquema fatorial  $2 \times 2 \times 4$ , com cinco repetições. Utilizou-se duas regiões do palmito, mediana e basal, amostras embaladas e não embaladas e, quatro

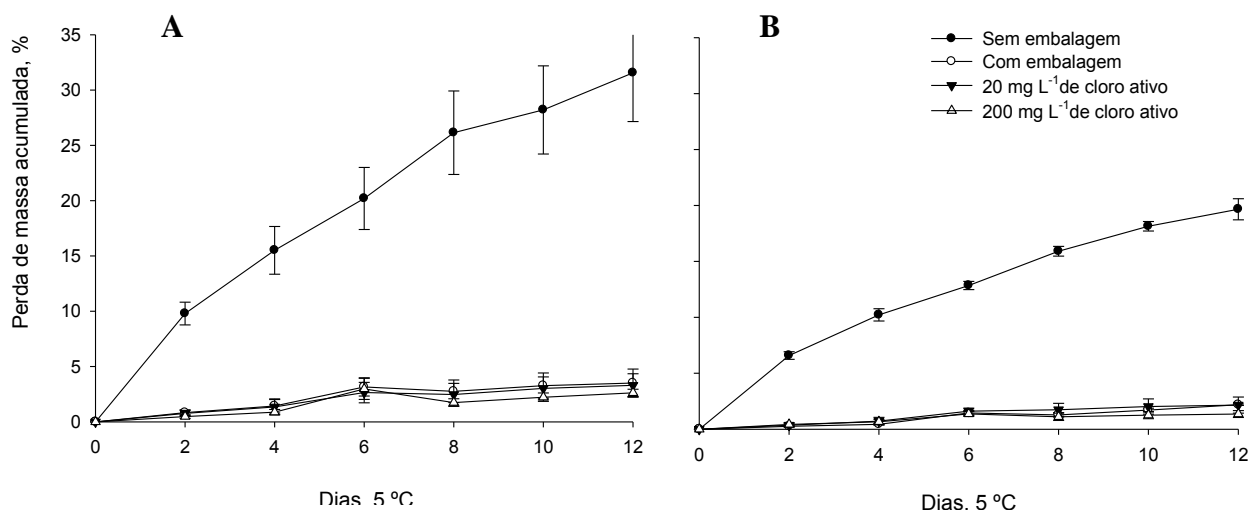
tempos de avaliação, 0, 4, 8 e 12 dias. Cada unidade experimental foi composta por três segmentos de 8 cm para a região mediana ou pelo segundo entrenó para região basal. Os dados obtidos foram normalizados e as médias foram comparadas pelo teste *t* em nível de 5% de probabilidade.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Etapa 1: Efeito de concentrações de cloro ativo na intensificação do amarelecimento superficial dos tecidos das hastes de palmito de pupunha**

##### **3.1.1 Perda de massa fresca**

Durante o período de conservação refrigerada a perda de massa fresca das regiões mediana e basal do palmito de pupunha aumentou gradativamente em todos os tratamentos avaliados (Figura 4). Ao final de 12 dias, a perda de massa acumulada na região mediana foi de 31% para as amostras do tratamento controle sem embalagem e de 3% para as amostras do tratamento controle com embalagem e para as amostras sanitizadas com 20 e 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo (Figura 4A). Para a região basal, as perdas acumuladas de massa fresca foram de 20% para as amostras controle sem embalagem e de 2% tanto para as amostras controle com embalagem como para as amostras sanitizadas com 20 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo e 1% para as amostras sanitizadas com 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo (Figura 4B).



**Figura 4.** Perda de massa acumulada (%) das regiões de palmito de pupunha minimamente processado durante 12 dias conservadas a 5 °C. A: região mediana do palmito de pupunha. B: região basal do palmito de pupunha. Tratamentos aplicados: 1. Controle, sem embalagem; 2. Controle, região embalada em filme PVC; 3. Imersão da região em solução contendo 20 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo; 4. : Imersão da região em solução contendo 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo. As barras representam o erro padrão da média.

Verificou-se aumento da perda de massa de aproximadamente 9 vezes nos tecidos das regiões mediana e basal, em relação à perda de massa fresca quando as amostras foram envoltas em filme PVC. A perda de peso total pós-colheita é resultado do somatório da perda de água pela transpiração e perda de matéria seca devida à atividade respiratória. Observou-se que a região mediana apresentou maior perda de massa em relação à região basal. Este resultado pode ser atribuído às diferenças existentes na composição dos tecidos das regiões estudadas. O palmito de pupunha é formado por porções caulinares e foliares em diferenciação. A região mediana apresenta bainha foliar, raque e folíolos em diferenciação, enquanto a região basal apresenta apenas porções caulinares (FONSECA, 2012).

### 3.1.2 Cor superficial

Houve interações significativas para tempo x concentração (Tabela 1) e para tempo x região (Tabela 2). Para a coordenada L\* não houve diferença entre os tempos no tratamento controle sem PVC. Para o tratamento controle com PVC os maiores valores de

$L^*$  foram entre 8 e 10 dias, enquanto para o tratamento imersão em solução contendo 20  $\text{mg L}^{-1}$  de cloro ativo observou-se maiores valores da coordenada  $L^*$  aos 8 dias de refrigeração e para o tratamento imersão em solução contendo 200  $\text{mg L}^{-1}$  de cloro ativo entre 8 e 10 dias obtiveram-se maiores valores dessa coordenada. Ao final do período de conservação o tratamento imersão em solução contendo 20  $\text{mg L}^{-1}$  de cloro ativo apresentou amostras com coloração mais clara, ou seja, maior valor de luminosidade,  $L^*$  (Tabela 1).

Para a coordenada  $b^*$  houve diferença entre os tempos em todos os tratamentos (Tabela 1). No tratamento controle sem embalagem, os tecidos das amostras apresentaram maior amarelecimento a partir de 8 dias. Nos tratamentos controle com embalagem e imersão em solução contendo 20  $\text{mg L}^{-1}$  de cloro ativo a cor amarela ficou mais intensa aos 12 dias, enquanto no tratamento com 200  $\text{mg L}^{-1}$  de cloro ativo a cor amarela acentuou aos 10 dias.

Comparando-se os tratamentos foi observado maior amarelecimento nas amostras do tratamento controle sem embalagem, evidenciado pelos maiores valores de  $b^*$  a partir do segundo dia de refrigeração. Entre os dias 2 e 6, os tratamentos controle com embalagem e 20  $\text{mg L}^{-1}$  mantiveram os tecidos menos amarelos, porém aos 12 dias o tratamento 200  $\text{mg L}^{-1}$  apresentou menores valores de  $b^*$ , indicando tecidos menos amarelos em relação aos demais tratamentos (Tabela 1).

**Tabela 1-** Valores médios das coordenadas L\* e b\* em tecidos de palmito de pupunha minimamente processado conservado a 5 °C em diferentes dias e concentrações de cloro ativo.

<b>Coordenada, L*</b>				
Dias	Controle sem PVC	Controle com PVC	20 mg L <sup>-1</sup>	200 mg L <sup>-1</sup>
0	85 Aa	82 Dab	82 Cab	80 Cb
2	84 Ab	84 CDb	87 Bab	88 Aba
4	87 Aa	88 ABa	89 ABa	88 ABa
6	87 Aa	89 ABa	88 Ba	88 ABa
8	89 Ab	93 Aab	94 Aa	92 Aab
10	88 Aa	92 Aa	91 ABa	90 Aa
12	85 Aab	87 BCab	88 Ba	84 BCb

<b>Coordenada, b*</b>				
Dias	Controle sem PVC	Controle com PVC	20 mg L <sup>-1</sup>	200 mg L <sup>-1</sup>
0	10 Ea	11 Ca	10 Ca	12 Ca
2	14 Da	11 Cb	10 Cb	13 Ca
4	16 Ca	11 Cc	11 Cc	13 BCb
6	19 Ba	12 Cc	12 Cc	14 BCb
8	23 Aa	15 Bb	14 Bb	15 ABb
10	22 Aa	17 Bb	15 Bb	16 Ab
12	24 Aa	22 Aa	20 Ab	16 Ac

\*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os tratamentos com 20 e 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo reduziram a evolução do amarelecimento durante a refrigeração em relação aos controles. A mudança de coloração da coordenada b\* foi de 10 unidades para as amostras do tratamento com 20 mg L<sup>-1</sup> de cloro e de 5 unidades para as amostras do tratamento com 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo. Já em relação às mudanças de cor das amostras do controle sem PVC foi de 14 unidades e para o controle com PVC 12 unidades de variação da coordenada b\* (Tabela 1).

Em relação à interação tempo x região observou-se aumento gradual dos valores de b\* nas duas regiões estudadas de palmito de pupunha (Tabela 2). A partir de 8 dias os

valores de  $b^*$  na região mediana foram mais significativos em relação ao tempo 0, indicando aumento da cor amarela. Para região basal o maior valor de  $b^*$  foi verificado aos 12 dias de conservação refrigerada.

**Tabela 2-** Valores médios das coordenadas  $L^*$  e  $b^*$  de palmito de pupunha minimamente processado conservado a 5 °C em diferentes dias e regiões da haste.

Dias	Coordenada, $L^*$		Coordenada, $b^*$	
	Mediana	Basal	Mediana	Basal
0	79 Eb	84 Da	11 Da	11 Da
2	85 CDb	87 CDa	12 CDa	12 CDa
4	87 BCa	89 BCa	14 BCa	12 Cb
6	87 BCb	89 BCa	15 Ba	13 Cb
8	90 Ab	93 Aa	18 Aa	16 Bb
10	88 ABb	92 ABa	18 Aa	17 Ba
12	82 DEb	90 ABCa	18 Ab	23 Aa

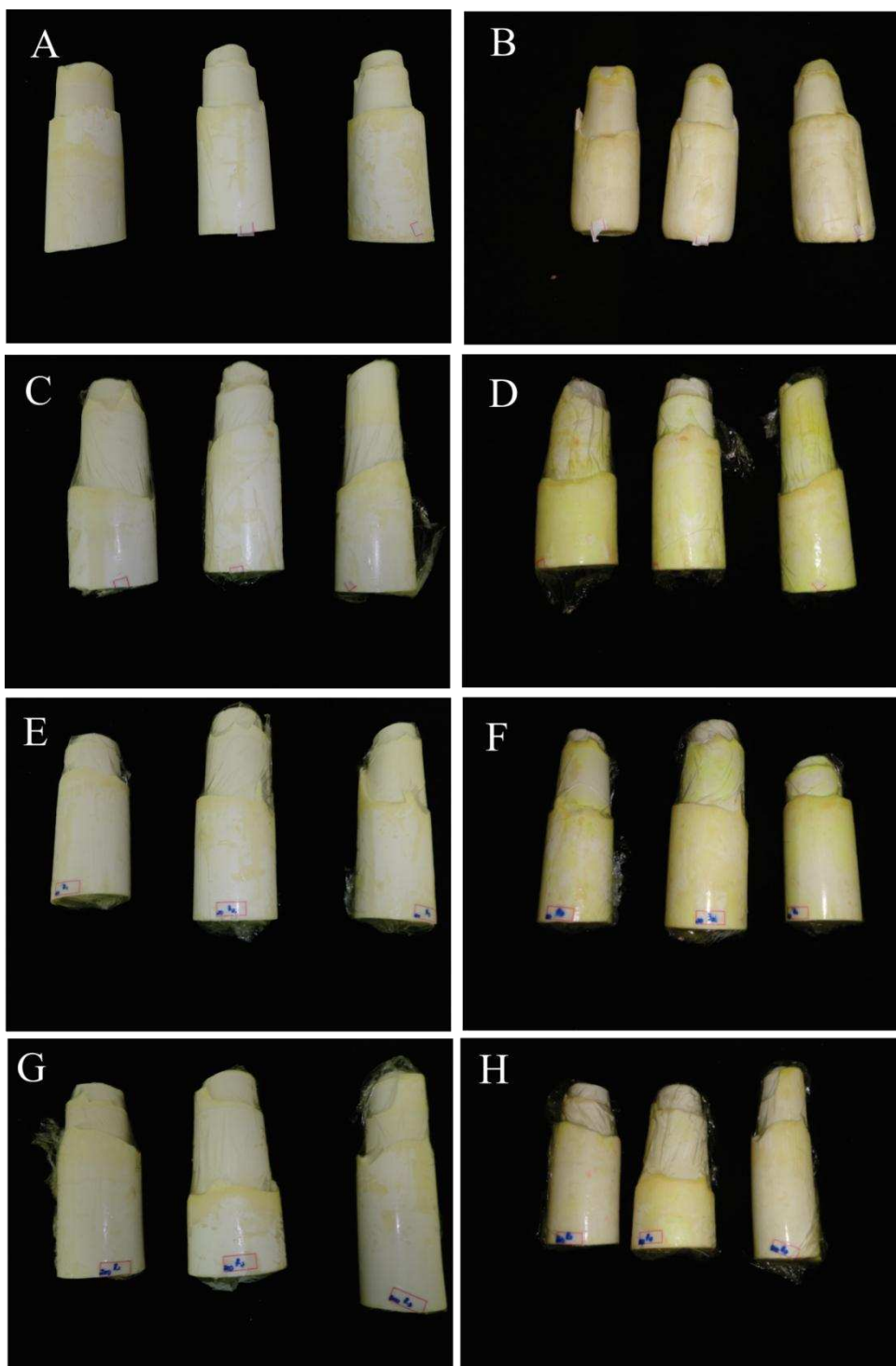
\*Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Observou-se amarelecimento superficial dos tecidos em todos os tratamentos ao final do período de refrigeração (Figura 5 e Figura 6). Amostras controle, sem embalagem, apresentaram maior alteração da cor, além de aspecto desidratado (Figura 5B e Figura 6B), confirmando os resultados obtidos na análise de cor instrumental (Tabela 1). Os tratamentos nos quais as amostras das regiões mediana e basal foram imersas em 20 e 200 mg  $L^{-1}$  de cloro ativo alteraram a cor creme característica do palmito de pupunha com menor intensidade em relação os tratamentos controle, sem e com filme PVC.

Verificou-se que a região basal alterou a cor superficial com maior intensidade em relação à região mediana. Durante a conservação refrigerada a mudança de coloração da coordenada  $b^*$  foi de 8 unidades para as amostras da região mediana e de 12 unidades para as amostras da região basal (Tabela 2).



**Figura 5.** Aspecto visual da região mediana de palmito de pupunha minimamente processado conservado a 5 °C. (A, C, E e G) amostras da região mediana no início da conservação refrigerada, dia 0. (B, D, F e H), amostras da região mediana no final da conservação refrigerada, dia 12. (A, B) região mediana sem embalagem, (C, D) região mediana envolta em filme PVC, (E, F) região mediana sanitizada em solução contendo 20 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo e envolta em filme PVC e (G, H) região mediana sanitizada em solução contendo 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo e envolta em filme PVC.



**Figura 6.** Aspecto visual da região basal de palmito de pupunha minimamente processado conservado a 5 °C. (A, C, E e G) amostras da região basal no início da conservação refrigerada, dia 0. (B, D, F e H), amostras da região basal no final da conservação refrigerada, dia 12. (A, B) região basal sem embalagem, (C, D) região basal embalada em filme PVC, (E, F) região basal sanitizada em solução contendo 20 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo e envolta em filme PVC e (G, H) região basal sanitizada em solução contendo 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo e envolta em filme PVC.

Foi possível observar desuniformidade na coloração, isto é, o amarelecimento não ocorre de maneira homogênea nos tecidos. Além disso, verificou-se que as alterações na cor do palmito de pupunha se correlacionam positivamente com os tratamentos com cloro ativo avaliadas neste trabalho, visto que, a imersão em soluções contendo cloro ativo preservou por mais tempo a cor característica do palmito de pupunha.

### 3.2 Etapa 2: Quantificação e identificação de compostos fenólicos

#### 3.2.1 Cor superficial

Para a coordenada  $b^*$  houve diferença para a variável tempo e para a interação tempo x região, enquanto para a coordenada  $L^*$  não houve diferença (Tabela 3).

Não houve diferença entre os valores de  $b^*$  durante a conservação refrigerada para a região mediana. Já para a região basal foi verificado aumento do valor de  $b^*$  aos 12 dias de refrigeração (Tabela 3). Ao final do período de conservação observou-se na região basal maior valor da coordenada  $b^*$ , 23.

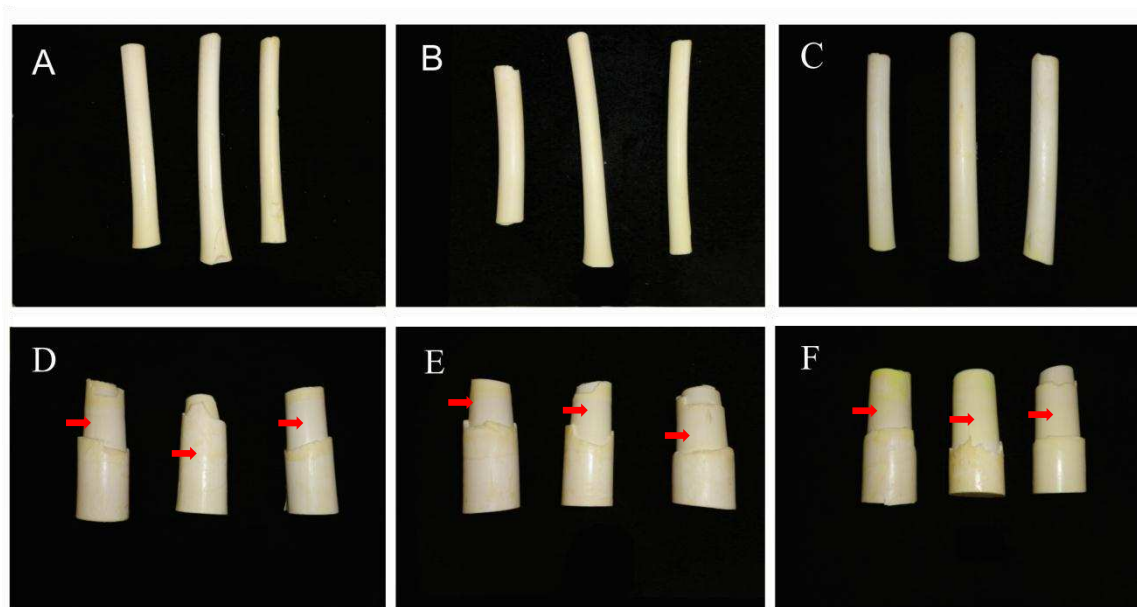
**Tabela 3-** Valores médios das coordenadas  $L^*$  e  $b^*$ , aos 0, 6 e 12 dias a 5 °C, das regiões mediana e basal de palmito de pupunha minimamente processado.

Região da haste	Coordenada $L^*$			Coordenada $b^*$		
	0	6	12	0	6	12
Mediana	93 Aa	92 Aa	94 Aa	16 Aa	19 Aa	18 Ba
Basal	93 Aa	95 Aa	94 Aa	14 Ab	16 Ab	23 Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os tecidos das regiões estudadas apresentaram amarelecimento superficial ao final do período de conservação refrigerada (Figura 7). A aparência das regiões após a refrigeração mudou da cor creme, característica do palmito de pupunha, para amarelada e com aspecto deteriorado após 12 dias de conservação a 5 °C (Figuras 7C e 7F). Em uma mesma parcela experimental verificou-se amostras cuja mudança de cor e aparência

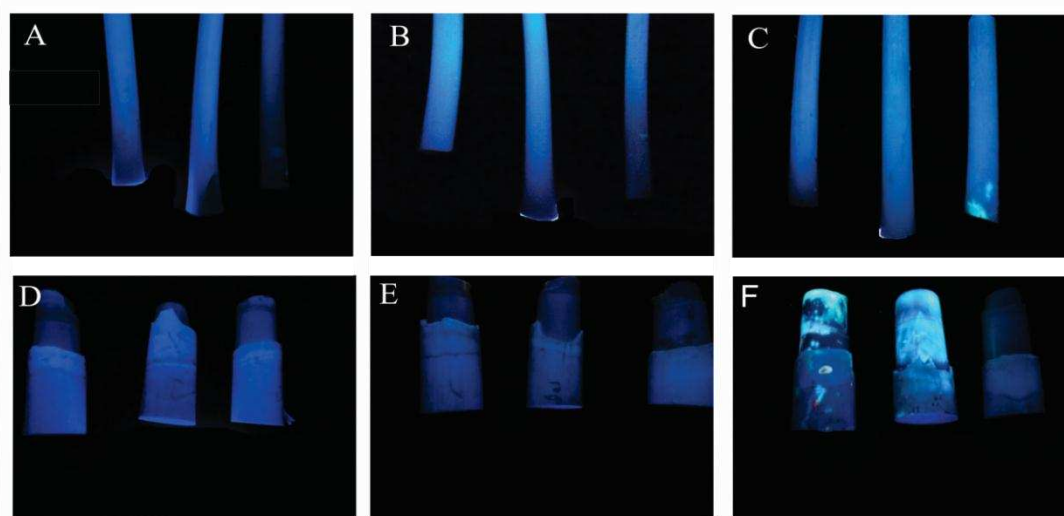
ocorreram mais rapidamente e com maior intensidade, ou seja, os tecidos não apresentaram uniformidade na coloração. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Clement et al. (1999) em estudos sobre conservação de palmito de pupunha em atmosfera modificada. Observou-se que o amarelecimento é constante nos locais com injúrias, próximo ao local de retirada das bainhas de proteção.



**Figura 7.** Aparência das regiões mediana (A-C) e basal (D-F) de palmito de pupunha minimamente processado embaladas em bandejas de poliestireno revestidas por filme PVC em 0 (A, D), 6 (B, E), e 12 (C, F) dias de armazenamento a 5 °C. As setas em vermelho indicam o segundo entrenó.

Aos 12 dias de refrigeração observou-se que os tecidos das regiões estudadas apresentaram fluorescência em pontos aleatórios quando expostos à luz ultravioleta (Figuras 8C e 8F). Isto indica uma possível contaminação por micro-organismos, como a bactéria *Pseudomonas* sp, e como consequência tem-se a mudança de coloração superficial dos tecidos. *Pseudomonas* são micro-organismos psicotróficos e constituem o mais importante grupo de bactérias responsáveis por deterioração em alimentos frescos refrigerado, provocando problemas como limosidade superficial e odores desagradáveis devido à atividade proteolítica e lipolítica (CARVALHO, 2010). Devido ao manuseio e injúrias mecânicas decorrentes das etapas do processamento mínimo, a contaminação por micro-organismos deterioradores e patogênicos pode ser favorecida. A lesão dos tecidos expõe substratos celulares à ação de micro-organismos que por sua vez aceleram a

degradação e a perda de qualidade e reduzem o tempo de vida útil dos produtos (MORETTI, 2007). No entanto, para que se possa afirmar que houve contaminação por algum micro-organismo é necessário a realização de análises microbiológicas específicas.



**Figura 8.** Aparência das regiões mediana (A-C) e basal (D-F), sob luz ultravioleta, de palmito de pupunha minimamente processado embaladas em bandejas de poliestireno revestidas por filme PVC em 0 (A, D), 6 (B, E), e 12 (C, F) dias de armazenamento a 5 °C.

### 3.2.2 Compostos fenólicos solúveis totais

O teor de compostos fenólicos solúveis totais diferiu apenas na região mediana, bainha externa, para os diferentes tempos de conservação refrigerada (Tabela 4).

**Tabela 4-** Teor médio de compostos fenólicos solúveis totais ( $\mu\text{g D-catequina g}^{-1}$  MF) em diferentes regiões do tecido de palmito de pupunha minimamente processado conservado a 5 °C por 12 dias.

Região da haste	Dias, 5 °C		
	0	6	12
Mediana- bainha externa	0,4 Ab	0,8 Aa	0,5 Aab
Mediana - raque	0,7 Aa	0,5 Aa	0,6 Aa
Basal – região externa	0,5 Aa	0,5 Aa	0,6 Aa
Basal- região interna	0,7 Aa	0,4 Aa	0,6 Aa

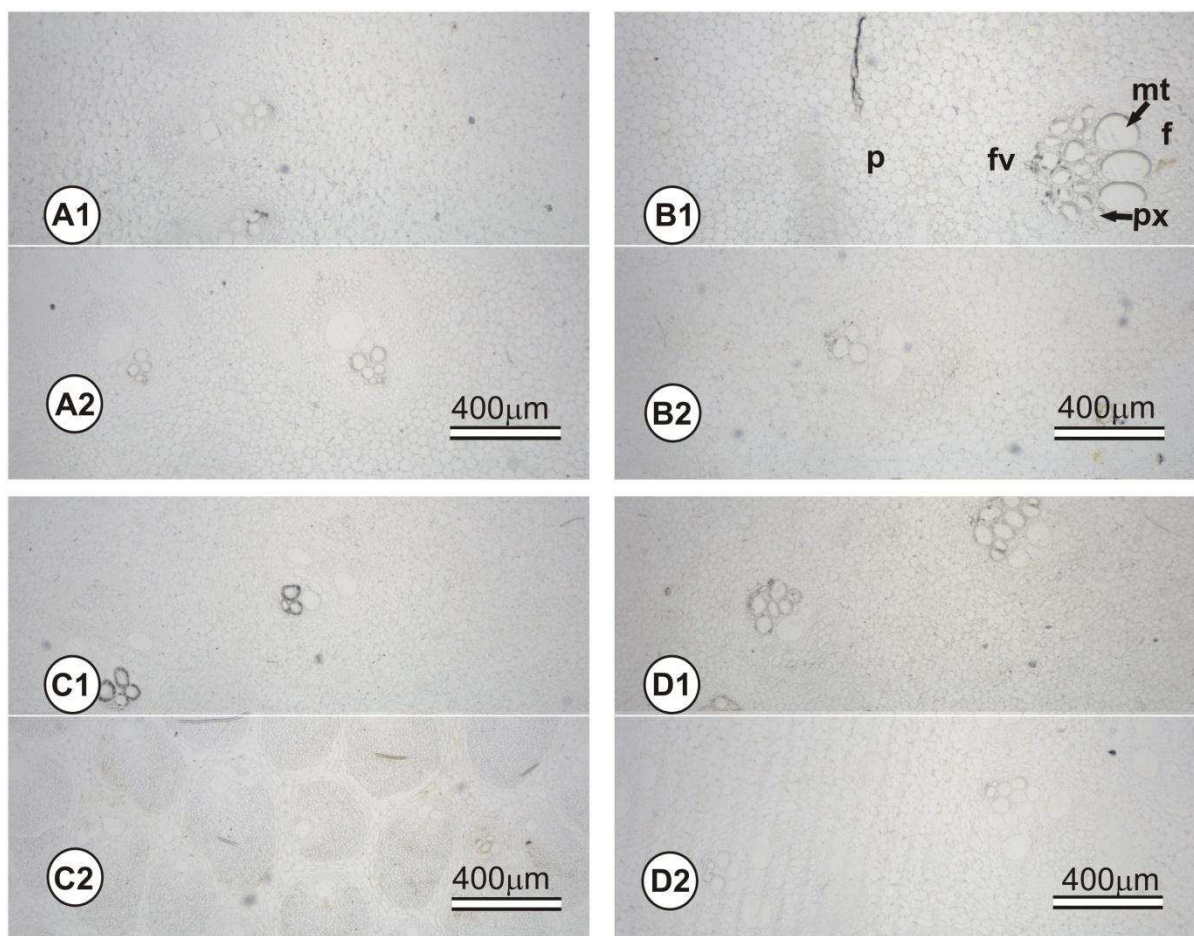
Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na vertical e minúsculas na horizontal não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Houve tendência de manutenção do teor de compostos fenólicos ao longo da conservação refrigerada em todos os tratamentos. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4 e na Figura 7, sugere-se que o teor de compostos fenólicos não está associado com a mudança de coloração, de creme para amarelo intenso, dos tecidos de palmito de pupunha.

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e desenvolvimento, além disso, se formam em condições de estresse como ferimentos, infecções e radiações UV. Em alimentos, são responsáveis pela coloração, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK & SHAHIDI, 2004). No entanto, como já mencionado, não foi possível estabelecer uma associação entre teor de compostos fenólicos e o amarelecimento. O método utilizado neste trabalho para a quantificação dos compostos fenólicos totais foi o método espectrofotométrico. Apesar de ser tradicionalmente utilizado, este não é um método específico, pois detecta todos os grupos fenólicos presentes no extrato, incluindo proteínas extraíveis. Outra desvantagem é a interferência de reduzir substâncias como ácido ascórbico (ANGELO & JORGE, 2007). Sendo assim, torna-se necessário confirmar os resultados obtidos por meio de métodos sem interferentes, mais detalhados e específicos para quantificação de compostos fenólicos.

### **3.2.3 Análise histoquímica**

As reações de identificação de compostos fenólicos por cloreto férrico foram negativas nos tratamentos (Figura 9). O resultado positivo é confirmado pelo surgimento de coloração marrom a negro (FIGUEIREDO et al., 2007). A análise histoquímica está coerente com os resultados verificados na análise quantitativa para compostos fenólicos solúveis totais (Tabela 5).



**Figura 9.** Fotomicrografias de seções transversais dos tecidos das regiões mediana (A-B) e basal (C-D) de palmito de pupunha, antes (A e C) e após (B e D) a refrigeração por 12 dias a 5 °C. A1, região mediana- bainha externa, dia 0. A2, região mediana- raque, dia 0. B1, região mediana- bainha externa, dia 12. B2, região mediana- raque, dia 12. C1, região basal- externa, dia 0. C2 região basal- interna, dia 0. D1, região basal- externa, dia 12. D2 região basal- interna, dia 12. A ausência de coloração marrom a negro indica a reação negativa para compostos fenólicos com o teste de cloreto férrico. f, floema; fv, feixe vascular; mt, metaxilema tardio; p, parênquima; px, protoxilema. Barra = 400 µm.

Testes histoquímicos fundamentam-se em reações cromáticas realizadas em tecidos vegetais que permitem a identificação e o reconhecimento da natureza de compostos químicos presentes nas paredes celulares e conteúdo celular como carboidratos, proteínas, lipídeos e compostos fenólicos (ASCENSÃO, 2003).

Os compostos fenólicos são constituídos por fenóis simples, ortodihidrofenóis, flavonóides e agliconas flavônicas, taninos e ligninas (ASCENSÃO, 2003). Tais compostos são metabólitos secundários provenientes da rota do ácido

chiquímico ou da rota do ácido malônico. A rota do ácido chiquímico participa na biossíntese da maioria dos compostos fenólicos vegetais, já a rota do ácido malônico é menos expressiva nas plantas superiores, embora seja uma fonte importante de produtos secundários fenólicos em bactérias e fungos (TAIZ & ZEIGER, 2013).

O reagente cloreto férrico é um teste generalista que identifica compostos fenólicos gerais. Compostos fenólicos como os flavonoides podem não ser identificados, na maioria das vezes, devido à sua grande instabilidade ou podem ser identificados através de microscopia de fluorescência em luz ultravioleta ou também com o uso de fluorocromo (SANT'ANNA-SANTOS et al., 2006; ASCENSÃO, 2003).

Desse modo, sugere-se análises mais específicas, como cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para identificação e quantificação de compostos fenólicos totais, quantificação individual e/ou de um grupo ou classe de compostos fenólicos.

### **3.2.4 Análise anatômica estrutural**

A análise anatômica estrutural (Figura 10) dos tecidos da bainha externa da região mediana e dos tecidos da porção externa da região basal de palmito de pupunha minimamente processado sugere relação entre a cor superficial dos tecidos e as injúrias que ocorrem durante o processamento mínimo. Observou-se que houve modificação da cor ao final do período de refrigeração (Figuras 10A e 10B). Esta alteração na cor ocorreu de forma aleatória ao longo da superfície das regiões mediana e basal do palmito de pupunha. Esta distribuição sugere o efeito de injúrias mecânicas devido ao manuseio durante o processamento mínimo das hastes de palmito estar relacionado ao amarelecimento superficial.

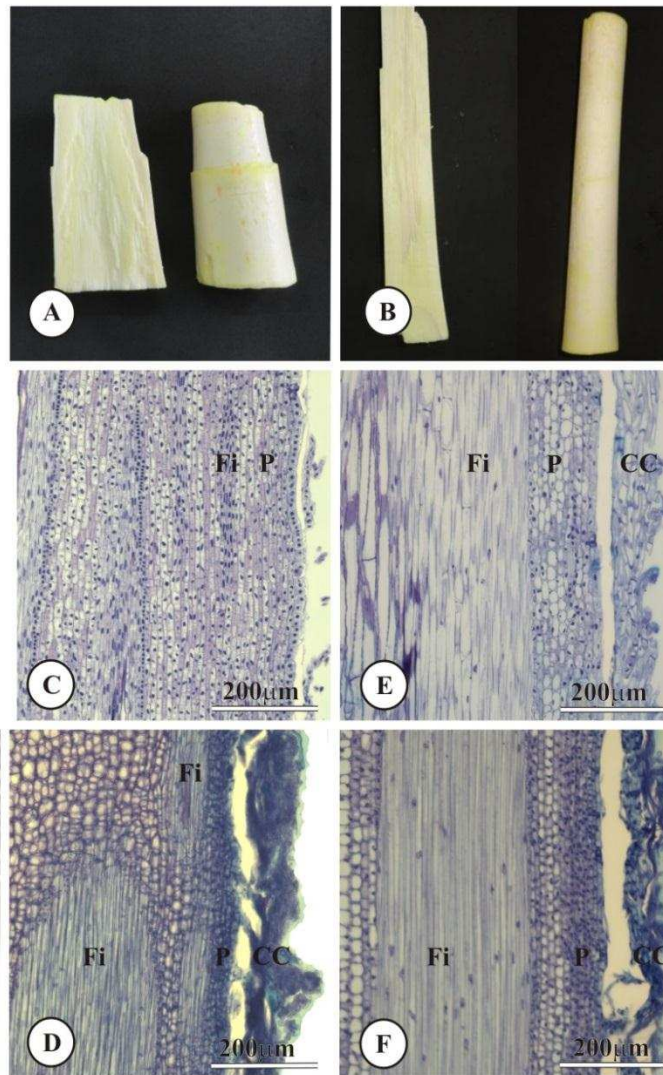
Analisando a estrutura em corte longitudinal verificou-se a presença de citoplasma mais denso e o núcleo mais evidente em células menos diferenciadas nas camadas periféricas do material no início da conservação refrigerada (Figuras 10C e 10E). Os processos de expansão celular, deposição de parede e aparente lignificação foram observados em células mais diferenciadas nas camadas periféricas das regiões basal e mediana (Figuras 10D e 10F).

O tecido de revestimento em diferenciação apresentou-se como uma camada superficial composta por células tendendo a quadradas (Figura 10C). Essa camada superficial apresentou apêndices, tricomas, em diferenciação ou proliferação de camadas

de células nesta superfície ou do tecido/ meristema fundamental logo abaixo desta camada. A presença desta camada de tricomas após 12 dias é inerente ao material avaliado, mas parece aumentar em regiões mais velhas (Figuras 10D e 10F, Tabela 6) ou apresentando injúrias ou amarelecimento. Após o período de refrigeração estas camadas também se apresentaram colapsadas (Figuras 10D e 10F). O aumento do número de camadas de células, bem como seu colapso, pode contribuir para a alteração na coloração da superfície do palmito, além de poder contribuir para ambiente favorável para a proliferação de micro-organismos, como sugere as imagens apresentadas na Figura 8.

As células mais alongadas e internas correspondem ao tecido esclerênquima em diferenciação, que podem ocorrer em grupos de fibras ou fibras associados a feixes vasculares (Figura 10). Entre estas fibras e o tecido de revestimento em diferenciação existe um número variável de camadas de células de parênquima (Tabela 5). Este número pode estar relacionado à divisão das células destas camadas e à posição onde a camada de fibras se diferencia. Um menor número de camadas, compreendido entre as fibras e epiderme em diferenciação, e maior espaço por elas ocupado foram verificados nas amostras no início da conservação refrigerada (Tabela 5). Por outro lado, nas amostras ao final do período de refrigeração, foi verificada tendência de aumento da espessura da camada superficial compactada (Tabela 5). Este efeito físico também pode contribuir para a alteração da coloração superficial do palmito.

De acordo com Pereira & Esemann-Quadros (2007) a espécie *Bactris gasipaes* apresenta bainha foliar anfiestomática e tricomas tectores, apenas na fase abaxial, pluricelulares, eventualmente bisseriados, formando um denso indumento. Assim, têm-se evidências de que a camada superficial colapsada observada neste trabalho seja constituída por tricomas tectores. A presença de tricomas na fase abaxial da bainha de folhas em diferenciação ocorre em vários gêneros de Arecaceae, funcionando como um lubrificante, facilitando o deslizamento entre bainhas adjacentes durante o seu crescimento (TOMLINSON, 1990).



**Figura 10.** Morfologia e anatomia em seção longitudinal das regiões basal e mediana do palmito de pupunha. A e B, aspecto visual das regiões basal e mediana, respectivamente, após 12 dias de refrigeração. C e D, seção longitudinal da região basal nos tempos 0 e 12 dias após refrigeração. E e F, seção longitudinal da região mediana nos tempos 0 e 12 dias após refrigeração. Fi, fibras; P, parênquima; CC, camada colapsada de células. Barra = 200  $\mu\text{m}$ .

**Tabela 5.** Número de camadas de parênquima e tecido de revestimento primário em diferenciação e da espessura da camada de células superficial colapsada das regiões mediana e basal do palmito de pupunha aos 0 e 12 dias de refrigeração, 5 °C.

Região da haste	Dias	Número de camadas de parênquima e tecido de revestimento primário em diferenciação	Espessura da camada externa colapsada (µm)
Mediana	0	7 <sup>ns</sup>	191 <sup>ns</sup>
	12	11	234
Basal	0	5 <sup>ns</sup>	35 <sup>ns</sup>
	12	8	196

<sup>ns</sup> Não significativo

### 3.3 Etapa 3: Simulação dos eventos de amarelecimento por estímulo físico

#### 3.3.1 Cor superficial

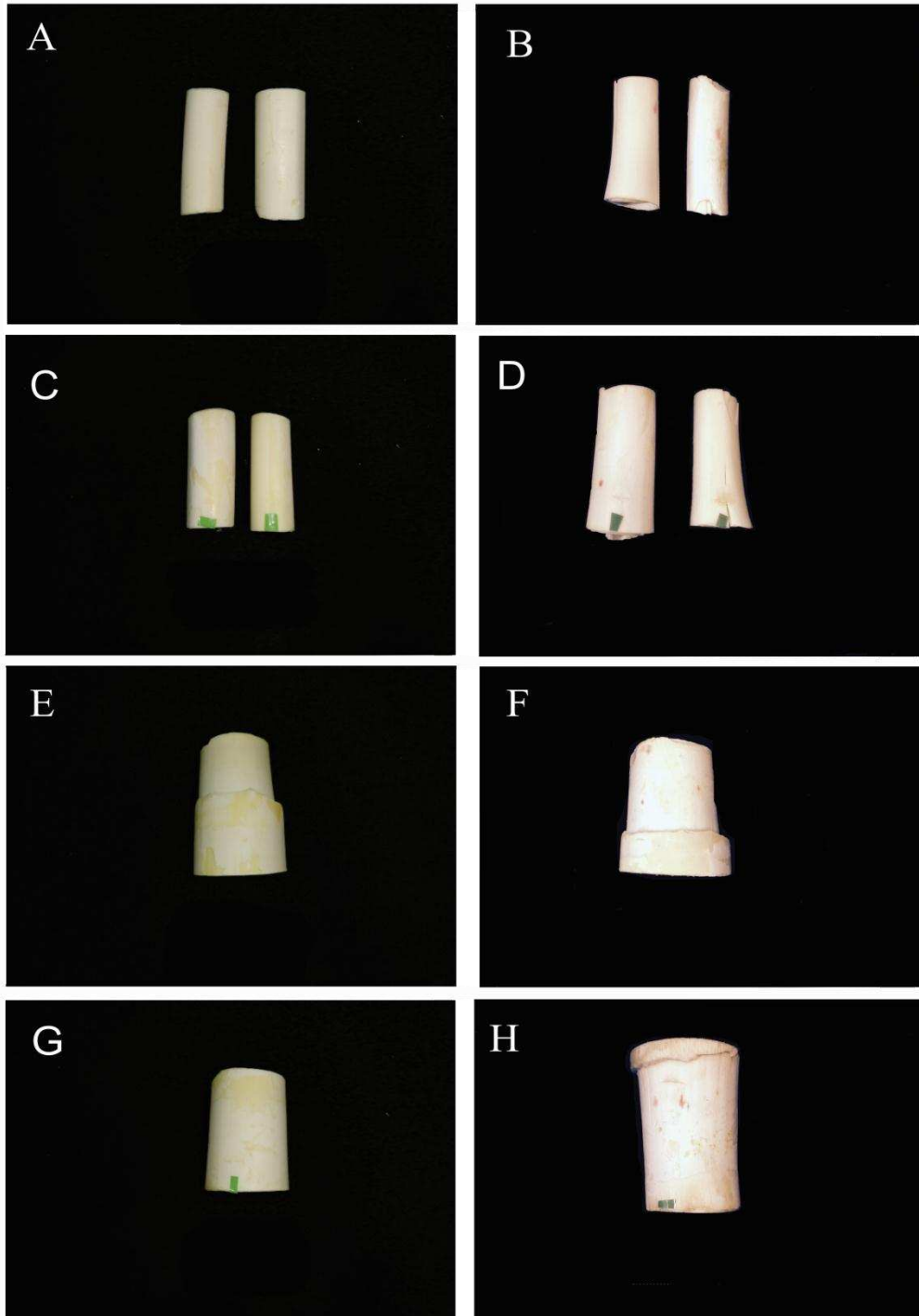
Não houve efeito significativo entre os fatores estudados (Tabela 6). Para a variável tempo de conservação houve diferença na coordenada L\*. O valor de L\* decresceu em todos os tratamentos ao final do período de conservação refrigerada. A redução do valor de L\* indica escurecimento superficial dos tecidos, ou seja, houve diminuição da luminosidade.

As regiões em estudo pouco alteraram a cor original ao final da refrigeração (Figura 11). A imposição de uma injúria induzida através de aplicação de força (N) com diferentes intensidades não influenciou a cor superficial dos tecidos ao final de nove dias de conservação em todos os tratamentos (Figura 11) o que está de acordo pela observação de valores de b\* não significativos.

**Tabela 6** - Valores médios das coordenadas L\* e b\* nos tecidos de palmito de pupunha minimamente processado conservado a 5 °C em diferentes regiões da haste, com e sem injúria e dias de conservação refrigerada.

<b>Região da haste</b>	<b>Coordenada L*</b>	<b>Coordenada b*</b>
Mediana	85 <sup>ns</sup>	15 <sup>ns</sup>
Basal	87	16
<b>Injúria</b>		
Sem injúria	87 <sup>ns</sup>	15 <sup>ns</sup>
Com injúria	85	16
<b>Dias</b>		
0	88 <sup>*</sup>	15 <sup>ns</sup>
9	84	17

<sup>ns</sup> e <sup>\*</sup>= Não significativo e significativo a 5% pelo teste F, respectivamente.



**Figura 11.** Aparência das regiões mediana (A-D) e basal (E-H) de palmito de pupunha minimamente processado embaladas em bandejas de poliestireno revestidas por filme PVC em 0 (A, C, E, G) e 9 (B, D, F, H) dias de armazenamento a 5 °C. (A, B, E, F) amostras das regiões do palmito de pupunha sem injúria e (C, D, G, H) com injúria mecânica.

### 3.3.2 Análise anatômica estrutural

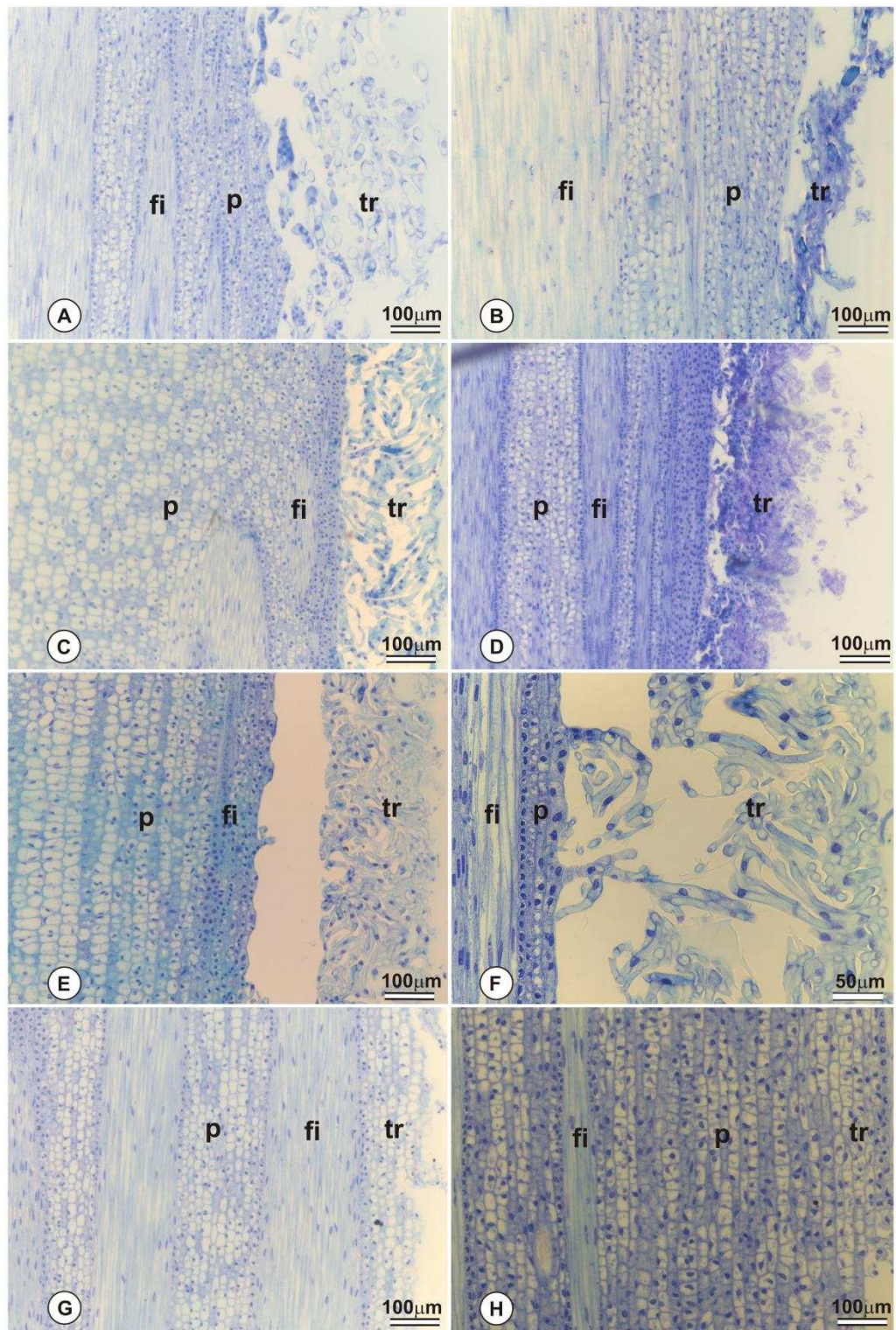
Algumas amostras perderam as camadas periféricas colapsadas durante o processamento, impossibilitando realizar todas as medições dos parâmetros propostos nesta etapa. Por este motivo, na ausência de um número de repetições suficiente, foram apresentados resultados descritivos.

De maneira geral, observou-se o colapso da camada de células externas e tricomas em todos os tratamentos após o período de conservação refrigerada (Figura 12). Observou-se aumento do número de camadas de parênquima e tecido de revestimento primário em diferenciação, e da espessura da camada externa colapsada, ao final da conservação refrigerada nas amostras submetidas à injúria (Tabela 7). Nos tecidos da região mediana este número dobrou, passando de seis para aproximadamente 12. Para a região basal, este número aumentou quatro vezes (Tabela 7). O aumento e/ou o colapso destas camadas de células periféricas pode contribuir para as diferenças de coloração observadas nos tecidos de palmito de pupunha minimamente processado.

Em relação a espessura da camada externa colapsada foi observada grande heterogeneidade. A espessura desta camada manteve-se na região mediana e aumentou na região basal, ao final de nove dias de refrigeração em amostras submetidas à injúria (Tabela 7). A camada de tricomas aparentou ser mais colapsada nos tratamentos com injúria (Figuras 12D e 12H) e passíveis de serem destacadas (Figuras 12C, 12E e 12G) naturalmente ou durante o processamento das amostras.

Mesmo na ausência de um teste estatístico, diferenças qualitativas como menor espaço entre as camadas de células, maior número de células compactadas e até mesmo a ruptura de células nesta região nas amostras submetidas à injúria intencional (Figura 12) foram observadas como resultado do colapso da camada de tricomas. A queda ou perda parcial ou total, bem como o colapso, desta camada de tricomas inviabilizou a sua contagem ou medição.

Os resultados apresentados são inconclusivos, uma vez que existe diferença qualitativa na organização das camadas de tecidos fundamentais e de revestimento do palmito que podem influenciar a cor superficial dos tecidos, porém comprometidas pela perda induzida ou natural desta camada em algumas amostras.



**Figura 12.** Fotomicrografias de seções longitudinais das regiões mediana e basal, com e sem injúria, do palmito de pupunha aos 0 e 9 dias após refrigeração, 5 °C. A e B, região mediana controle nos tempos 0 e 9 dias, respectivamente. C e D, região mediana com injúria aos 0 e 9 dias, respectivamente. E, região basal controle no tempo 0 dias. F, detalhe dos tricomas na região basal controle dia 0. G e H, região basal com injúria aos 0 e 9 dias, respectivamente. fi, fibras; p, parênquima; Tr, tricomas. Em A-E, G-H, barra = 100 µm e em F barra = 50 µm.

**Tabela 7.** Número de camadas de parênquima e tecido de revestimento primário em diferenciação e da espessura da camada de células superficial colapsada das regiões basal e mediana do palmito de pupunha, com e sem injúria, aos 0 e 9 dias de refrigeração, 5 °C.

Região da haste	Tratamento	Dias	Número de camadas de parênquima e tecido de revestimento primário em diferenciação	Espessura da camada externa colapsada (µm)
Mediana	Controle	0	7	450
		9	7	165
	Injúria	0	6	388
		9	12	366
Basal	Controle	0	6	315
		9	#	#
	Injúria	0	4	560
		9	18	885

# Não avaliado

### 3.4 Etapa 4: Perfil metabólico durante a conservação refrigerada

#### 3.4.1 Perda de massa fresca

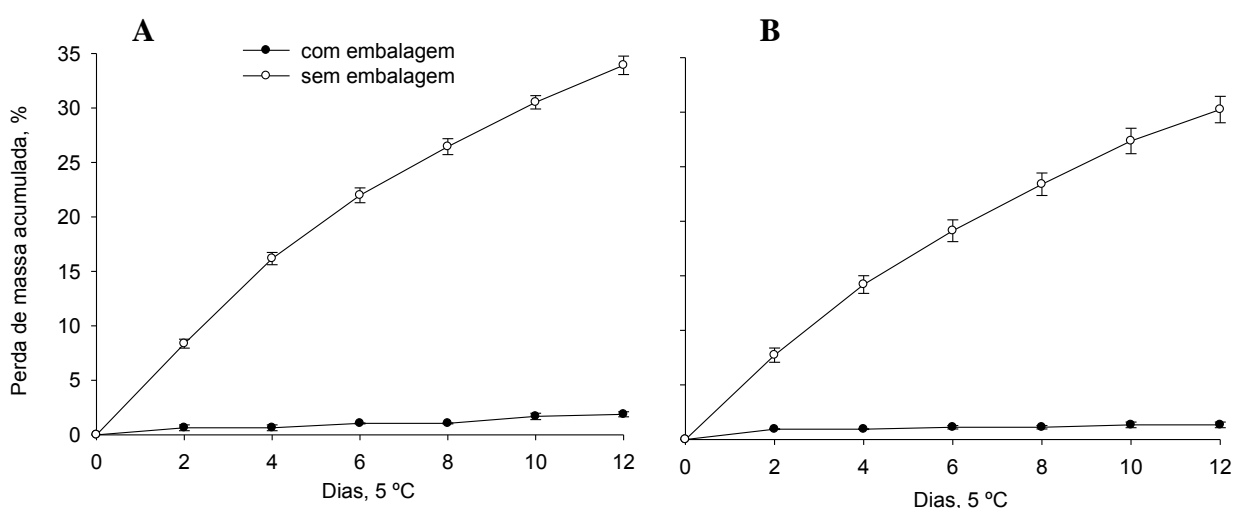
A perda de massa fresca aumentou gradualmente ao longo do período de refrigeração (Figura 13). Amostras dos tratamentos que não foram embaladas apresentaram perda de massa acumulada mais expressiva em relação às que foram embaladas em bandejas de poliestireno revestidas por filme PVC (Figura 13).

Aos 12 dias, a perda de massa acumulada foi de 2% para a região mediana embalada, 34% para a região mediana não embalada, 1% para a região basal embalada e 30% para a região basal não embalada. Os resultados obtidos foram semelhantes aos encontrados por Fonseca (2012).

Considera-se aceitável uma perda de massa em torno de 5%, para a maioria dos produtos hortícolas, podendo variar em função da espécie (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Desse modo, as amostras embaladas encontraram-se dentro desse valor considerado crítico. No entanto, os valores de perda de massa acumulada obtidos para as amostras sem embalagem foram acima de 5%.

O palmito é composto por tecido meristemático em diferentes estádios de diferenciação, portanto as células encontram-se em intensa divisão celular e apresentam altas taxas transpiratórias (FONSECA, 2012). Desse modo, os tecidos são suscetíveis à rápida desidratação após a colheita.

A perda de massa resulta em perda de água pelo processo transpiratório. A desidratação pode levar a alterações significativas na composição e metabolismo dos tecidos (BONGHI et al., 2012; RIZZINI et al., 2009). Esses autores estudaram alterações no perfil de transcritos induzidas por diferentes taxas e intensidade de perda de água pós-colheita em epiderme de bagas de uva para produção de vinhos e concluíram que existe uma relação direta entre a intensidade de desidratação e o número de genes que sofrem alterações na expressão, principalmente os genes envolvidos com síntese de hormônios, metabolismo de açúcares e mecanismos de defesa.



**Figura 13.** Perda de massa acumulada (%) das regiões de palmito pupunha minimamente processado durante 12 dias conservadas a 5 °C. A: região mediana do palmito de pupunha embalada em bandejas de poliestireno revestidas por filme PVC e sem embalagem. B: região basal do palmito de pupunha embalada em bandejas de poliestireno revestidas por filme PVC e sem embalagem. As barras representam o erro padrão da média.

### 3.4.2 Proteína total

Os teores de proteínas totais em diferentes regiões da haste de palmito de pupunha estão apresentados na Tabela 8. Não houve interações significativas entre regiões da haste, tratamento e tempo de conservação refrigerada. Apenas a variável tempo de conservação foi significativa (Tabela 8).

O teor médio de proteínas totais foi de 14 g/100 g de massa seca para as regiões mediana e basal. Para as amostras embaladas em bandejas de isopor revestidas por filme PVC o teor médio de proteínas totais também foi de 14 g/100 g, mesmo conteúdo de proteína quantificado nas amostras não embaladas. Enquanto que para o tempo de conservação refrigerada o teor médio de proteínas foi de 13 g/100 g para o tempo 0 dias e de 15 g/100 g para o tempo 12 dias.

**Tabela 8-** Teor de proteínas de palmito de pupunha minimamente processado conservado a 5 °C em diferentes regiões da haste, embaladas em bandejas de isopor, revestidas por filme PVC e sem embalagem e dias de conservação refrigerada.

<b>Região da haste</b>	<b>Proteína, g/100 g MS</b>
Mediana	14 <sup>ns</sup>
Basal	14
<b>Tratamento</b>	
Com embalagem	14 <sup>ns</sup>
Sem embalagem	14
<b>Dias, 5 °C</b>	
0	13*
12	15

<sup>ns</sup> e \* = Não significativo e significativo a 5% pelo teste F, respectivamente.

MS = Massa seca

### 3.4.3 Alterações metabólicas

Os níveis dos metabólitos detectados nas regiões mediana e basal, com e sem embalagem, de palmito de pupunha minimamente processadas e conservadas a 5 °C estão apresentados nas Figuras 14 e 15 e na Tabela 9.

Verificou-se que os níveis de frutose reduziram em função do tempo para todos os tratamentos estudados. Já os níveis de maltose, produto da degradação do amido, reduziram para os tratamentos região mediana com embalagem e região basal com embalagem. Entretanto, nos tratamentos sem embalagem os níveis desse metabólito apresentaram uma tendência de aumento (Tabela 9). Em relação aos componentes da parede celular foram observados durante o período de conservação refrigerada, aumentos dos níveis de arabinose e fucose para todos os tratamentos testados. Verificou-se também redução dos níveis de sorbose e tendências de aumentos dos níveis de galactose e isomaltose. Os níveis de manose, melibiose, galactinol e trealose apresentaram tendências variáveis de reduções e aumentos dos níveis durante a refrigeração (Tabela 9). Com relação aos níveis dos açúcares sacarose, glicose e frutose, observou-se redução dos níveis em todos os tratamentos durante a conservação refrigerada. Reduções mais expressivas dos níveis desses metabólitos foram verificadas nos tratamentos sem embalagem (Figura 14 e Tabela 9).

De maneira geral, os intermediários do ciclo dos ácidos tricarboxílicos (ciclo TCA) apresentaram níveis reduzidos durante o período de refrigeração (Figura 15). No entanto, foi observado uma tendência de aumento, não significativa, dos níveis de 2-oxoglutarato para todos os tratamentos e dos níveis de citrato para os tratamentos região mediana sem embalagem e região basal com embalagem (Figura 15).

Foram verificados acúmulos dos níveis de aminoácidos da família composta por serina, glicina, O-acetil serina e cisteína, derivada do 3-fosfoglicerato após doze dias sob conservação refrigerada (Figura 15).

Para os aminoácidos derivados do fosfoenolpiruvato, observou-se uma clara tendência de acúmulo de triptofano em todos os tratamentos. Enquanto para o aminoácido tirosina houve tendência de redução, exceto para as amostras do tratamento região mediana sem embalagem, em que foi verificado manutenção do mesmo. Já para o aminoácido fenilalanina, foram verificados aumentos dos níveis desse metabólito para os tratamentos região mediana com e sem embalagem. Além disso, observou-se uma

tendência de redução dos níveis desse aminoácido para os tratamentos região basal com embalagem e sem embalagem (Figura 15).

Para os aminoácidos originados do piruvato observou-se aumentos dos níveis de alanina para os tratamentos região mediana com embalagem e região mediana sem embalagem. Para os demais tratamentos verificou-se uma tendência de acúmulo durante a conservação refrigerada. Leucina e valina apresentaram tendências de acúmulo em todos os tratamentos durante a refrigeração (Figura 15).

O intermediário do ciclo TCA, 2-oxoglutarato, é precursor metabólico do glutamato. Deste aminoácido, derivam inúmeros outros, dos quais foram detectados neste trabalho os seguintes: aminoácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), prolina, ornitina, glutamina e histidina. Neste grupo de metabólitos observou-se redução do glutamato em todos os tratamentos em função do acúmulo dos outros aminoácidos derivados dele. De maneira geral, os níveis de GABA e prolina apresentaram tendência de redução. Enquanto glutamina e histidina houve tendência de acúmulo durante o período de conservação refrigerada. Entretanto, para os níveis de glutamina, no tratamento região mediana sem embalagem, observou-se uma tendência de redução. Nos tratamentos região mediana com e sem embalagem foi observado tendência de redução dos níveis de ornitina, diferentemente da região basal, com e sem embalagem, na qual foi verificado acúmulo desse aminoácido. Aos quatro dias de conservação foram verificadas diferenças dos níveis de ornitina em função da região da haste do palmito de pupunha. A região mediana apresentou tendência de redução dos níveis enquanto que a região basal apresentou tendência de acúmulo (Figura 15). A partir do oxaloacetato, outro intermediário metabólico do ciclo TCA, deriva o aminoácido aspartato, no qual foi observado reduções dos seus níveis ao longo da refrigeração. Essa redução ocorreu, provavelmente, em detrimento da síntese de aminoácidos derivados do aspartato. Verificou-se tendência de acúmulo de homoserina e isoleucina em todos os tratamentos. Para asparagina observou-se tendência de redução, ao passo que os níveis de treonina também apresentaram tendência de redução, exceto para o tratamento mediana com embalagem. Os níveis de metionina apresentaram variações, uma vez que houve tendência de acúmulo nos tratamentos mediana sem embalagem e basal com embalagem e tendência de redução para os tratamentos mediana com embalagem e basal sem embalagem (Figura 15).

Para os ácidos graxos quantificados foram observadas variações dos níveis ao longo do período de refrigeração, apresentando aumentos e reduções (Tabela 9). Verificou-se acúmulo do ácido octadecanoico para todos os tratamentos. Já para os ácidos

hexacosanoico e tetracosanoico houve aumento dos níveis exceto para o tratamento região basal sem embalagem, o qual apresentou apenas uma tendência de aumento. Os níveis dos ácidos octadecanoico e palmítico apresentaram uma redução durante a conservação refrigerada. O ácido tetradecanoico apresentou três comportamentos distintos: níveis reduzidos para os tratamentos região mediana com embalagem e região basal sem embalagem, níveis com tendência de acúmulo para a região mediana sem embalagem e tendência de redução para o tratamento região basal com embalagem (Tabela 9).

Em relação aos níveis de poliaminas, esta análise revelou que putrescina e espermidina apresentaram uma tendência de redução aos doze dias sob refrigeração, no entanto, apenas o tratamento região basal com embalagem apresentou tendência de acúmulo (Tabela 9).

De acordo com os resultados apresentados, as alterações metabólicas ao longo do tempo associam-se com aumento da atividade respiratória dos tecidos de palmito de pupunha observado por Fonseca (2012). Além disso, verificou-se também alteração no perfil de aminoácidos nos quais os níveis apresentaram aumentos ou reduções durante o período de refrigeração. Observou-se aumento gradual da perda de massa fresca que pode estar associado às alterações metabólicas sugerindo um aumento do consumo de carboidratos pelo processo respiratório durante a conservação refrigerada. Neste sentido, verificou-se que os níveis reduzidos de açúcares e dos intermediários do ciclo TCA observados nos tratamentos estudados são coerentes com trabalhos anteriores onde se verificou alta taxa respiratória dos tecidos das regiões mediana e basal de palmito de pupunha minimamente processado (FONSECA, 2012). De acordo com a tabela de classificação da taxa respiratória de hortaliças proposta por Kader (2002), a taxa respiratória das regiões do palmito de pupunha é considerada moderada a alta. Possivelmente essa atividade respiratória deve-se à intensa divisão celular que ocorre em tecidos meristemáticos. Após o processamento mínimo, carboidratos, lipídeos e proteínas podem ser utilizados como fontes de carbono necessários para produção de energia e outros intermediários metabólicos na respiração (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Essa informação está coerente com os resultados obtidos, pois, assim como os açúcares, os níveis de alguns ácidos graxos diminuíram durante a conservação refrigerada. No entanto, os teores totais de proteína não variaram ao longo do período de refrigeração (Tabela 9). Este resultado indica que carboidratos e lipídeos seriam os principais substratos respiratórios. Em estudos prévios observou-se alterações metabólicas em

maças com escurecimento interno em função de diferentes condições de armazenamento pós-colheita. Sendo assim, uma das observações verificadas foi a redução dos níveis de malato, ácido orgânico intermediário do ciclo TCA, durante o período de armazenamento a 1 °C (VANDENDRIESSCHE et al., 2013).

Os metabolismos do carbono e do nitrogênio estão intimamente interligados (MARENCO et al., 2009). Os esqueletos de carbono utilizados na biossíntese de aminoácidos derivam principalmente da respiração, rota das pentoses fosfatadas, glicólise e ciclo TCA (Figura 14). Os esqueletos de carbono de aminoácidos são geralmente convertidos em precursores ou intermediários do ciclo TCA, contribuindo para o metabolismo mitocondrial e produção de ATP (HILDEBRANDT et al., 2015).

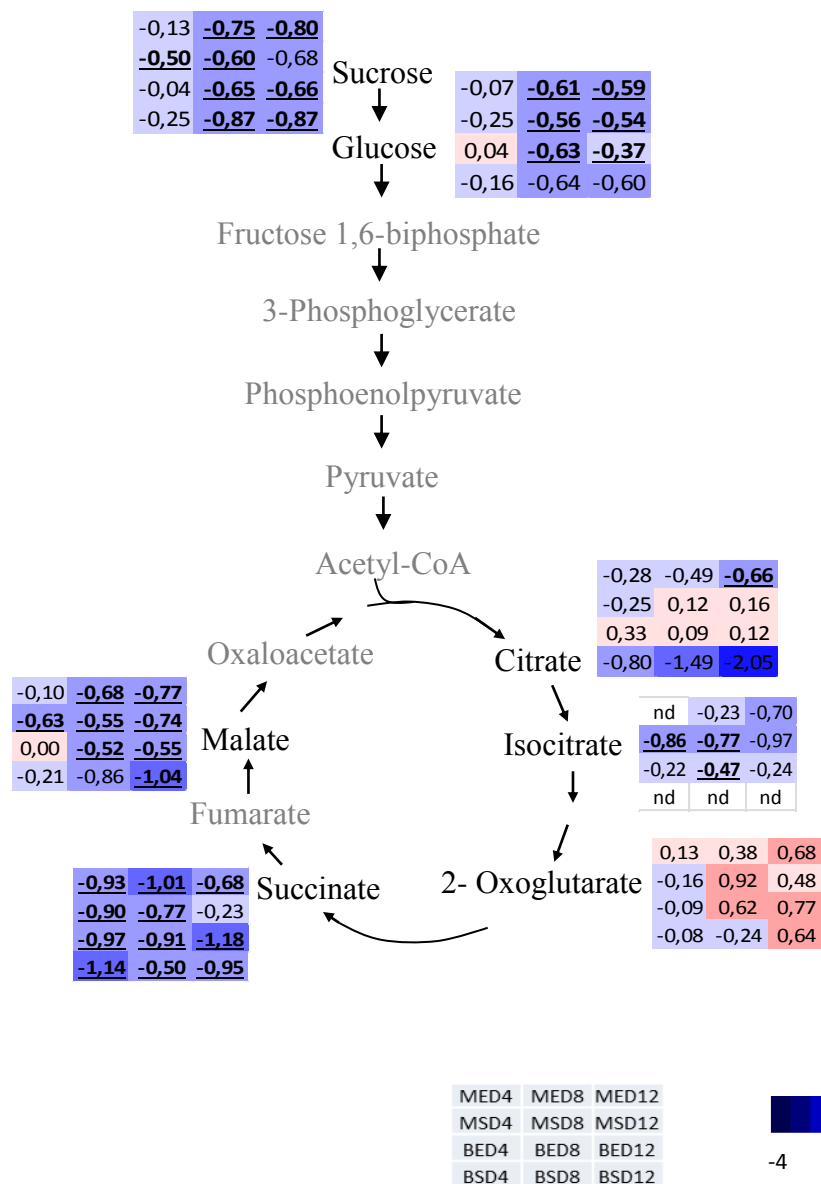
Os aminoácidos desempenham inúmeras funções importantes em plantas. São utilizados durante a biossíntese de proteínas e de outros compostos nitrogenados, tais como nucleotídeos, fitormônios ou metabólitos secundários (HÄUSLER et al., 2014). Neste contexto, os aminoácidos provenientes da degradação de proteínas são fontes de elétrons para síntese de ATP. Além disso, os aminoácidos possuem papel importante na sinalização de processos, como respostas a estresses bióticos e abióticos (PRATELLI & PILOT, 2014). Assim, como foi observado neste trabalho, o perfil de aminoácidos em tecidos vegetais pode alterar dinamicamente em resposta a vários fatores tais como estresse, ambiente ou estádios de desenvolvimento (HILDEBRANDT et al., 2015).

Obata & Fernie (2012) demonstraram que em condições de estresse o aminoácido GABA pode atuar como fonte de substrato para o processo respiratório, o que está de acordo com os resultados obtidos nesse estudo visto que, as operações que compõem o processamento mínimo tais como descasque e corte geram uma série de estresses aos tecidos (BORDONABA et al., 2014). Como resultado, este estudo indica redução dos níveis desse aminoácido. Em estudos para caracterização metabólica do tomate durante o desenvolvimento, amadurecimento e vida pós-colheita observou-se redução dos níveis de GABA, ou seja, comportamento semelhante aqueles verificados nos tecidos das regiões da haste do palmito de pupunha (OMS-OLIU et al., 2011). Esses autores verificaram reduções dos níveis de ácido málico e dos níveis de GABA, concordando com os resultados observados neste trabalho (Figura 14 e Figura 15). Do mesmo modo, a concentração de sacarose diminuiu em mais de 90% durante os estágios finais da pós-colheita dos frutos de tomate, seguindo a mesma tendência para os tecidos das regiões do palmito de pupunha estudadas (Figura 14).

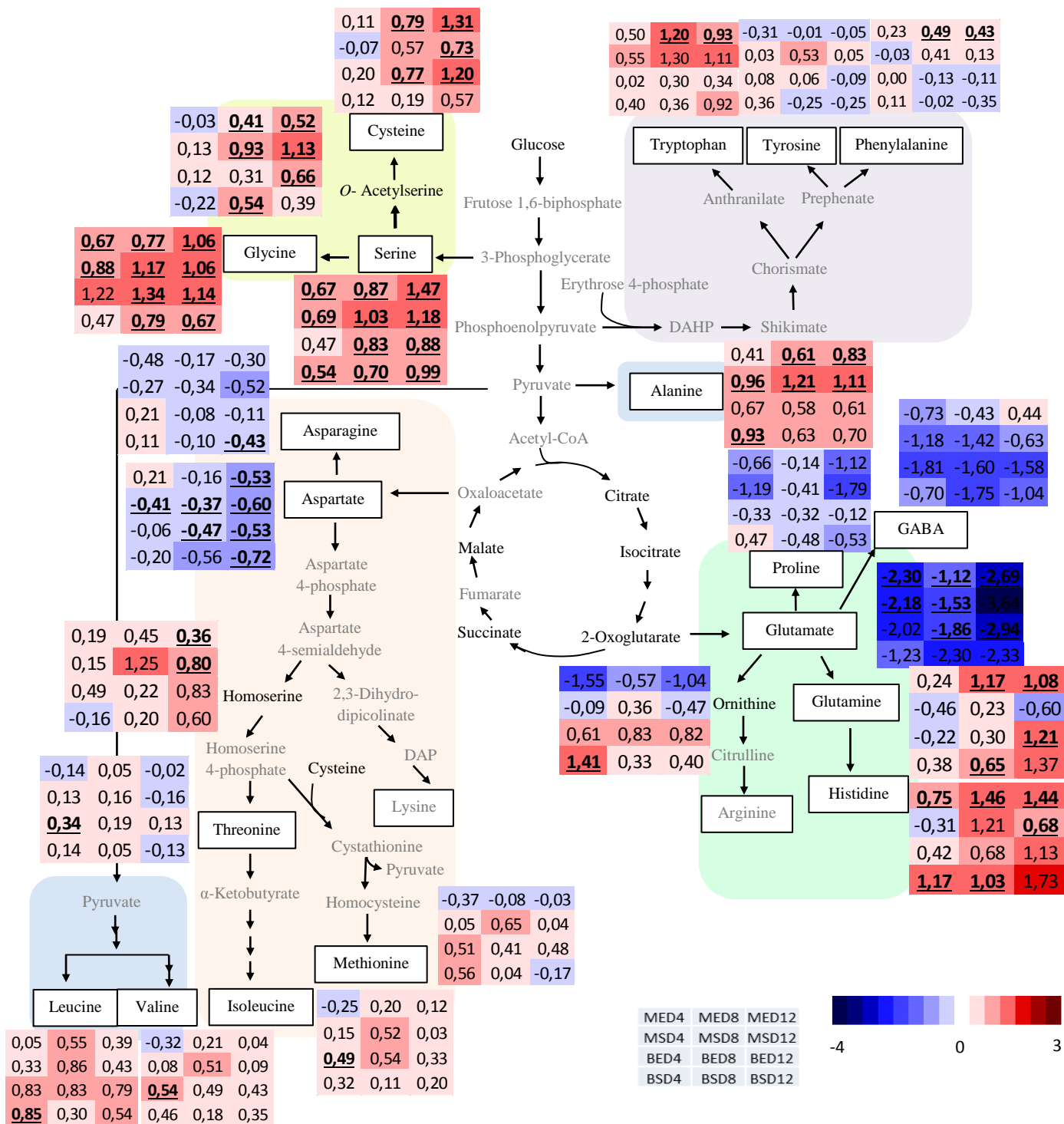
Os aminoácidos lisina e treonina também são influenciados em situações de estresse (OBATA & FERNIE, 2012). Desse modo, os níveis de treonina apresentaram uma leve redução na região mediana sem embalagem e basal sem embalagem aos 12 dias de refrigeração (Figura 15). A região mediana com embalagem também apresentou resultados similares para esse aminoácido. A ausência da embalagem aparentemente gerou uma situação de estresse para os tecidos, visto que a embalagem tem como função proteger contra perda de água, danos mecânicos, contaminação microbiana e sujidades.

Muitos estudos evidenciam que as poliaminas na forma livre mantêm a qualidade pós-colheita atuando como agente anti-senescência, além de reduzir a taxa de respiração, atrasar a produção de etileno, retardar mudanças de cor, aumentar a firmeza de frutos, induzir a resistência contra danos mecânicos e reduzir os sintomas de danos causados pela refrigeração (CHAMPA et al., 2014; PÉREZ-VICENTE et al., 2002). Neste trabalho foi observado tendência de redução dos níveis de poliaminas após a refrigeração, da mesma maneira em estudos com lichia observou-se redução significativa dos níveis de putrescina, espermidina e espermina com o período de armazenamento refrigerado a 5 °C (JIANG & CHEN, 1995).

Com base nos resultados obtidos neste estudo, verificou-se que ocorre aumento na respiração dos tecidos e este aumento leva ao consumo, principalmente, de carboidratos e ácidos graxos como substratos respiratórios, não alterando os teores de proteína total ao longo da conservação refrigerada (Tabela 9). Além disso, alterações nos níveis de aminoácidos foram verificadas. A região da haste do palmito de pupunha e a presença ou ausência de embalagem parecem não influenciar drasticamente os níveis dos metabólitos avaliados neste trabalho. Desse modo, sugere-se avaliar as atividades das principais enzimas envolvidas no processo respiratório para correlacioná-las com os níveis de metabólitos presentes nos tecidos em estudo. Assim, será possível compreender a regulação metabólica existente a fim de estabelecer uma associação com as possíveis causas do amarelecimento superficial dos tecidos de palmito de pupunha.



**Figura 14.** Sacarose, glicose e intermediários do ciclo TCA em tecidos das regiões mediana e basal de palmito de pupunha minimamente processado, embaladas em bandejas de isopor, revestidas por filme PVC e sem embalagem, durante conservação refrigerada. Os valores referem-se à intensidade relativa do metabólito em relação aos respectivos controles no dia 0. Os valores foram transformados para logaritmo neperiano. Valores em negrito e sublinhados diferem pelo teste  $t$  ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos estão indicados na caixa acima. Abreviações: MED4: região mediana, com embalagem, dia 4; MED8: região mediana, com embalagem, dia 8; MED12: região mediana, com embalagem, dia 12; MSD4: região mediana, sem embalagem, dia 4; MSD8: região mediana, sem embalagem, dia 8; MSD12: região mediana, sem embalagem, dia 12; BED4: região basal, com embalagem, dia 4; BED8: região basal, com embalagem, dia 8; BED12: região basal, com embalagem, dia 12; BSD4: região basal, sem embalagem, dia 4; BSD8: região basal, sem embalagem, dia 8; BSD12: região basal, sem embalagem, dia 12; nd: metabólito não detectado. Os metabólitos que estão apresentados na cor cinza não foram quantificados. Para melhor visualização das alterações os valores foram destacados em azul e vermelho indicando redução e aumento dos níveis dos metabólitos conforme a escala de cores acima. A escala apresenta valores calculados em relação ao padrão interno.



**Tabela 9.** Perfil metabólico em tecidos das regiões mediana e basal de palmito de pupunha minimamente processado, embaladas em bandejas de isopor, revestidas por filme PVC e sem embalagem, durante conservação refrigerada. Os valores referem-se à intensidade relativa do metabólito em relação aos respectivos controles no dia 0. Os valores foram transformados para logaritmo neperiano. Valores em negrito e sublinhados diferem pelo teste *t* ( $P < 0,05$ ). Abreviações: D4: dia 4; D8: dia 8; D12: dia 12. nd: metabólito não detectado. Para melhor visualização das alterações os valores foram destacados em azul e vermelho indicando redução e aumento dos níveis dos metabólitos conforme a escala de cores abaixo. A escala apresenta valores calculados em relação ao padrão interno.

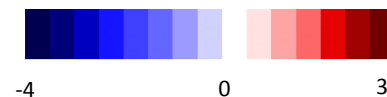
Metabólitos	Região Mediana						Região Basal					
	Com embalagem			Sem embalagem			Com embalagem			Sem embalagem		
Aminoácidos	D4	D8	D12	D4	D8	D12	D4	D8	D12	D4	D8	D12
Beta-alanine	0,01	0,40	<b>1,33</b>	-0,26	0,40	<b>1,24</b>	<b>-1,39</b>	<b>-1,32</b>	<b>-1,52</b>	-0,28	-0,42	0,41
Hydroxyproline	<b>-0,82</b>	-0,18	<b>-0,83</b>	-0,50	-0,23	<b>-0,92</b>	-0,21	0,03	0,30	-0,31	-0,11	-0,24
Pyroglutamic acid	-0,05	-0,13	-0,07	-0,17	0,08	-0,04	-0,32	-0,34	-0,13	-0,38	-0,33	<b>-0,41</b>
Ácidos orgânicos												
Citramalic acid	-0,08	0,47	0,46	0,18	0,44	<b>0,81</b>	0,19	<b>0,64</b>	<b>0,53</b>	0,03	<b>0,55</b>	0,46
Maleic acid	<b>0,37</b>	<b>0,59</b>	<b>0,92</b>	0,41	<b>0,58</b>	<b>0,87</b>	<b>0,48</b>	<b>0,90</b>	<b>0,88</b>	0,07	0,47	<b>0,55</b>
Ascorbic acid	-0,13	-0,16	-0,37	<b>-1,72</b>	0,15	-0,71	-0,11	-0,31	-0,73	-0,57	-0,57	<b>-2,02</b>
Dehydroascorbic acid dimer	0,04	-0,10	0,21	0,22	0,26	0,26	0,78	0,66	0,25	0,03	-0,02	<b>-0,68</b>
Glyceric acid	<b>-0,63</b>	-0,27	<b>-0,40</b>	-1,10	-1,34	-0,67	<b>-0,67</b>	-0,40	-0,50	<b>-0,99</b>	<b>-0,91</b>	<b>-0,88</b>
Malonic acid	<b>0,52</b>	<b>0,54</b>	<b>1,04</b>	<b>0,77</b>	<b>0,83</b>	<b>1,09</b>	0,47	<b>0,86</b>	<b>0,76</b>	-0,01	0,37	<b>0,65</b>
Açúcares fosfatados												
Fructose-6-phosphate	0,30	<b>0,73</b>	<b>0,39</b>	0,22	<b>0,66</b>	0,55	-0,02	0,34	0,44	-0,24	-0,09	0,04
Glycerol-3-phosphate	0,84	<b>1,36</b>	-0,06	<b>1,69</b>	<b>1,97</b>	<b>1,75</b>	0,76	0,37	<b>1,23</b>	0,88	0,22	0,48
Açúcares												
Maltose	0,24	0,03	-0,05	0,22	-0,72	0,19	<b>-0,52</b>	<b>-0,66</b>	-0,20	-0,05	-0,02	<b>0,57</b>
Fructose	-0,14	<b>-0,90</b>	<b>-0,90</b>	<b>-0,58</b>	<b>-0,85</b>	<b>-0,98</b>	-0,19	<b>-1,02</b>	<b>-0,91</b>	-0,37	<b>-1,10</b>	-1,03
Arabinose	0,16	<b>0,53</b>	<b>0,69</b>	<b>0,50</b>	0,21	<b>0,59</b>	-0,12	0,16	<b>0,41</b>	0,01	<b>0,61</b>	<b>0,48</b>
Fucose	0,40	<b>0,85</b>	<b>1,23</b>	0,30	0,38	<b>0,88</b>	0,02	<b>0,58</b>	<b>0,86</b>	-0,22	<b>0,51</b>	<b>0,73</b>
Mannose	0,09	0,02	0,07	0,01	-0,32	-0,22	-0,07	-0,23	-0,03	-0,05	-0,13	<b>-0,23</b>
Melibiose	0,78	0,77	-0,03	0,10	<b>1,43</b>	0,70	-0,30	0,58	0,59	-0,11	0,07	-0,22
1,6-Anhydro-beta-D-glucose	-0,27	-0,08	<b>-0,46</b>	<b>0,37</b>	0,04	0,09	<b>0,47</b>	<b>0,51</b>	0,21	-0,46	-0,10	-0,58
Galactinol	-0,25	-0,16	-0,02	0,75	-0,03	-0,33	-0,24	0,01	-0,53	-0,32	-0,41	0,25
Galactose, 3,6-anhydro	0,33	nd	<b>1,08</b>	<b>1,30</b>	0,71	<b>1,10</b>	0,96	<b>1,49</b>	nd	0,32	1,00	0,90
Isomaltose	0,60	0,49	0,19	0,69	1,00	0,44	0,02	-0,67	0,49	0,04	-0,13	0,25
Sorbose	-0,10	<b>-0,73</b>	<b>-0,75</b>	-0,44	<b>-0,79</b>	<b>-0,83</b>	-0,16	<b>-0,92</b>	<b>-0,77</b>	-0,26	<b>-0,90</b>	<b>-0,86</b>
Trehalose, alpha,alpha', D	-0,22	0,05	-0,21	-0,36	0,01	-0,93	-0,25	<b>-0,44</b>	0,01	0,26	0,13	0,25

Tabela 9. Continuação

Metabólitos	Região Mediana						Região Basal					
	Com embalagem			Sem embalagem			Com embalagem			Sem embalagem		
	D4	D8	D12	D4	D8	D12	D4	D8	D12	D4	D8	D12
<b>Ácidos graxos</b>												
Hexacosanoic acid	-0,11	<b>0,67</b>	<b>0,45</b>	0,46	<b>0,78</b>	<b>0,86</b>	0,16	<b>0,83</b>	<b>0,87</b>	-0,20	0,38	0,30
Octacosanoic acid	-0,38	<b>0,50</b>	<b>0,38</b>	<b>0,49</b>	<b>0,93</b>	<b>1,08</b>	0,22	<b>0,99</b>	<b>0,95</b>	-0,18	<b>0,48</b>	<b>0,47</b>
Octadecanoic acid	<b>-0,20</b>	<b>-0,82</b>	<b>-0,89</b>	<b>-0,54</b>	<b>-0,68</b>	<b>-0,79</b>	-0,09	<b>-0,74</b>	<b>-0,72</b>	-0,24	<b>-0,92</b>	<b>-0,93</b>
Tetracosanoic acid	-0,06	<b>0,63</b>	<b>0,33</b>	<b>0,62</b>	<b>0,80</b>	<b>0,89</b>	0,07	<b>0,90</b>	<b>0,77</b>	-0,16	0,37	0,12
Tetradecanoic acid	-0,19	-0,24	<b>-0,27</b>	-0,18	<b>0,26</b>	0,21	0,00	0,02	-0,20	-0,16	-0,58	<b>-0,68</b>
Palmitic acid	<b>-0,19</b>	<b>-0,58</b>	<b>-0,67</b>	<b>-0,32</b>	<b>-0,43</b>	<b>-0,56</b>	-0,07	<b>-0,51</b>	<b>-0,48</b>	-0,25	-0,69	<b>-0,70</b>
<b>Poliaminas</b>												
Putrescine	-0,72	-0,27	-0,09	-0,20	-0,67	<b>-0,78</b>	-0,61	-0,30	0,13	-1,36	-0,75	-0,09
Spermidine	nd	-0,24	Nd	0,17	0,48	nd	<b>-1,19</b>	-1,05	0,50	-1,20	nd	nd
Citrulline or Arginine	-1,01	-0,89	-0,73	-0,15	0,23	-0,30	0,99	0,83	0,92	1,24	-0,49	-0,31
<b>Outros</b>												
4-hydroxy-benzoic acid	<b>0,63</b>	<b>0,70</b>	<b>0,47</b>	0,28	0,38	0,18	<b>1,45</b>	<b>1,62</b>	<b>1,43</b>	0,14	<b>0,38</b>	0,20
Benzoic acid	0,03	0,03	<b>-0,42</b>	0,38	0,07	-0,12	0,27	0,38	-0,07	-0,34	0,04	-0,41
4-Hydroxycinnamic acid	<b>0,40</b>	<b>0,83</b>	<b>0,84</b>	0,51	<b>0,86</b>	<b>0,70</b>	0,11	<b>0,69</b>	<b>0,52</b>	-1,07	-0,98	-1,05
Galacturonic acid	0,05	0,22	0,18	<b>-0,51</b>	0,37	0,40	-0,16	-0,01	0,00	-0,28	<b>-0,55</b>	<b>-0,93</b>
Myo-Inositol	<b>-0,21</b>	<b>-0,98</b>	<b>-0,98</b>	<b>-0,74</b>	<b>-0,82</b>	<b>-1,03</b>	-0,06	<b>-0,87</b>	<b>-0,81</b>	-0,21	<b>-0,90</b>	<b>-0,95</b>
Adenosine-5-monophosphate	-0,14	<b>0,44</b>	0,22	<b>0,93</b>	<b>1,08</b>	<b>1,02</b>	0,15	<b>0,49</b>	<b>0,95</b>	0,38	0,58	<b>0,65</b>
Butanoic acid, 2-amino	-0,47	0,02	-0,17	0,35	0,61	0,00	0,11	0,12	0,21	1,31	0,19	0,04
Cysteinyl-glycine	0,63	<b>1,24</b>	<b>1,10</b>	0,28	<b>1,21</b>	0,11	-0,15	0,11	<b>0,93</b>	0,19	0,31	0,49
Capric acid	0,58	0,51	Ni	0,91	1,03	<b>0,80</b>	0,03	0,23	0,12	-0,33	-0,04	-0,04
Docosanoic acid	-0,04	<b>0,29</b>	<b>0,19</b>	0,24	0,28	<b>0,51</b>	-0,01	<b>0,29</b>	<b>0,34</b>	0,00	<b>0,28</b>	0,11
Glycerol	0,12	0,08	<b>-0,49</b>	<b>-0,29</b>	<b>-0,38</b>	<b>-0,61</b>	<b>0,67</b>	<b>0,49</b>	<b>0,23</b>	0,08	-0,02	<b>-0,35</b>
Nonanoic acid	<b>-0,29</b>	<b>0,14</b>	0,01	<b>0,61</b>	<b>0,56</b>	<b>0,54</b>	<b>-0,26</b>	<b>0,21</b>	<b>0,18</b>	-0,26	0,05	0,12
Gluconic acid	0,04	-0,03	1,24	-0,17	0,45	<b>0,45</b>	0,03	0,27	<b>1,64</b>	-0,68	-0,93	-1,21
Itaconic acid	0,33	<b>0,72</b>	<b>0,87</b>	<b>0,53</b>	<b>0,59</b>	0,45	0,29	<b>0,75</b>	<b>0,72</b>	0,27	<b>0,67</b>	0,35
Phosphoric acid	-0,25	0,06	0,06	-0,52	-0,56	-0,56	-0,05	0,25	0,05	-1,53	-1,90	-1,52
Glutaric acid	0,78	<b>1,13</b>	<b>1,61</b>	<b>1,83</b>	<b>2,14</b>	<b>2,21</b>	1,47	<b>1,57</b>	<b>1,29</b>	1,12	<b>1,13</b>	<b>1,13</b>

Tabela 9. Continuação

Metabólitos	Região Mediana						Região Basal					
	Com embalagem			Sem embalagem			Com embalagem			Sem embalagem		
Outros	D4	D8	D12	D4	D8	D12	D4	D8	D12	D4	D8	D12
Indole-3-acetonitrile	-0,26	<b>0,90</b>	-0,10	0,52	0,79	<b>1,12</b>	0,09	-0,29	0,11	0,48	0,40	0,87
Isopropyl-beta-D-thiogalactoside	0,66	<b>1,26</b>	<b>0,91</b>	1,40	<b>1,71</b>	<b>1,25</b>	0,05	0,19	0,93	0,57	0,43	0,89
Ribonic acid	0,04	0,58	<b>0,79</b>	-0,11	<b>1,19</b>	<b>0,74</b>	0,67	<b>0,66</b>	<b>1,13</b>	0,02	0,45	<b>0,87</b>
Sinapic acid	-0,34	-0,40	-0,31	0,32	-0,29	-0,08	0,28	-0,01	0,25	-0,23	-0,12	-0,22
Uracil	<b>0,37</b>	<b>0,87</b>	<b>0,93</b>	<b>0,55</b>	<b>0,90</b>	<b>1,49</b>	1,07	<b>1,53</b>	<b>1,36</b>	-0,03	<b>0,65</b>	<b>0,52</b>
Não identificados												
Unknown (sugar) 20	0,04	0,31	0,24	0,91	<b>0,91</b>	<b>1,07</b>	0,10	0,12	<b>0,57</b>	-0,13	-0,03	-0,18
Unknown 02	-0,84	0,47	-1,05	<b>1,39</b>	<b>1,36</b>	0,96	-0,36	<b>1,23</b>	0,79	0,57	1,10	0,31
Unknown 03	<b>1,16</b>	<b>1,04</b>	<b>0,79</b>	<b>0,69</b>	<b>0,90</b>	<b>0,78</b>	<b>0,85</b>	<b>1,12</b>	<b>0,65</b>	0,06	0,59	0,27
Unknown 04	-0,63	-0,55	-0,51	-0,61	0,00	0,26	-0,45	-0,06	-0,19	0,09	-0,68	-0,39
Unknown 08	-0,08	<b>-0,50</b>	1,33	-0,15	0,04	0,10	<b>0,42</b>	0,41	<b>2,76</b>	0,17	<b>-1,14</b>	-0,69
Unknown 10	-0,04	0,08	<b>-1,62</b>	0,13	0,70	0,22	-0,87	-0,75	-0,42	-0,66	-1,02	-0,84
Unknown 11	-0,29	-0,07	-0,23	-0,09	0,06	<b>0,87</b>	-0,09	-0,14	-0,07	<b>-0,50</b>	<b>-0,42</b>	0,26
Unknown 12	-0,20	-0,09	<b>-0,21</b>	0,05	<b>0,22</b>	0,05	<b>-0,23</b>	<b>-0,16</b>	0,00	-0,08	-0,15	-0,29
Unknown 13	0,02	0,18	-0,29	0,05	0,16	0,11	<b>-0,84</b>	-0,54	-0,21	-0,72	-0,04	<b>0,73</b>
Unknown 14	-0,05	-0,23	-0,52	0,29	0,57	-0,25	<b>-0,82</b>	<b>-0,89</b>	-0,64	<b>-0,80</b>	-0,25	0,50
Unknown 15	0,01	<b>0,34</b>	0,31	0,24	<b>0,45</b>	<b>0,51</b>	0,11	0,23	<b>0,48</b>	<b>0,35</b>	0,21	0,21
Unknown 16	<b>1,34</b>	<b>1,34</b>	<b>0,68</b>	<b>1,19</b>	<b>1,75</b>	<b>1,62</b>	<b>0,85</b>	<b>0,69</b>	<b>0,96</b>	<b>1,20</b>	<b>1,77</b>	<b>1,18</b>
Unknown 18	0,74	<b>1,69</b>	<b>1,60</b>	<b>1,15</b>	<b>1,94</b>	<b>2,68</b>	-0,01	<b>0,62</b>	<b>1,50</b>	<b>0,60</b>	<b>1,40</b>	1,83
Unknown 521800	0,27	<b>0,87</b>	<b>1,16</b>	-0,14	<b>0,55</b>	0,34	0,20	<b>0,55</b>	<b>1,11</b>	0,04	<b>0,41</b>	0,57
Unknown 534500	0,95	<b>1,19</b>	<b>0,70</b>	0,94	<b>1,40</b>	<b>0,86</b>	0,33	0,64	<b>0,85</b>	0,31	0,49	0,44
Unknown 640400	0,11	0,39	-0,49	0,72	0,39	0,47	-0,22	-0,50	0,31	0,12	-0,67	-0,38



#### 4. CONCLUSÕES

- Os tecidos das regiões mediana e basal de palmito de pupunha minimamente processadas intensificam a coloração amarelada durante 12 dias de conservação refrigerada;
- Alterações na cor característica dos tecidos de palmito de pupunha não se correlacionam negativamente com tratamentos utilizando soluções sanitizantes contendo cloro ativo nas concentrações estudadas;
- O teor de compostos fenólicos tende a se manter constante ao longo da conservação refrigerada, sugerindo que os compostos fenólicos solúveis totais não estão associados com a mudança de coloração;
- O amarelecimento é constante nos locais com injúrias, próximo ao local de ruptura das bainhas de proteção;
- Existe diferença qualitativa na organização das camadas de tecidos fundamentais e de revestimento do palmito que podem influenciar a cor superficial dos tecidos;
- Os tecidos das regiões do palmito de pupunha apresentam alterações metabólicas durante a conservação refrigerada. Além disso, o uso de embalagem não altera de forma drástica os níveis dos metabólitos detectados;

Os resultados sugerem que as causas do amarelecimento superficial dos tecidos são uma interação de vários fatores e não apenas um fator isolado. Além das hipóteses estudadas: concentrações de cloro ativo, presença de compostos fenólicos, estímulo por injúria e alterações metabólicas deve-se considerar também, em estudos futuros, os fatores pré-colheita como estado hídrico da planta bem como as condições climáticas de cultivo.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, J. A.; VILAS-BOAS, E. V. B.; SOUZA, E. C.; VILAS-BOAS, B. M.; PICOLLI, R. H. Vida útil de produto minimamente processado composto por abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 182-189, 2010.
- ANEFALOS, L. C.; TUCCI, L. M. S; MODOLO, V. A. Uma visão sobre a pupunheira no contexto do mercado de palmito. **Análises e indicadores do agronegócio**, v. 2, n. 7, 2007.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, p. 232-240, 2007.
- ARAÚJO, JMA. **Química de alimentos: teoria e prática**. 5. ed. Viçosa: UFV, 2011. 601p.
- ARAÚJO, L. M. Aproveitamento industrial e caracterização físico-química de palmito de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). 1993. 50 p. Dissertação. Manaus: INPA/UFAN.
- BELEGGIA, R.; PLATANI, C.; PAPA, R.; DI CHIO, A.; BARROS, E.; MASHABA, C.; WIRTH, J.; FARMARTINO, A.; SAUTTER, C.; CONNER, S.; RAUSCHER, J.; STEWART, D.; CATTIVELLI, L. Metabolomics and food processing: from semolina to pasta. **J Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.59, p. 9366-9377, 2011.
- BERNHARDT, L. W. Características do palmito da pupunheira do ponto de vista do processamento. In: SEMINÁRIO DO AGRONEGÓCIO,1. Palmito de pupunha na Amazônia, 1999. Porto Velho, **Anais...** 1999. Porto Velho-RO, Documento 41, p.24-33.
- BONGHI, C.; RIZZINI, F. M.; GAMBUTI, A.; MOIO, L.; CHKAIBAN, L.; TONUTTI, P. Phenol compound metabolism and gene expression in the skin of wine grape (*Vitis vinifera* L.) berries subjected to partial postharvest dehydration. **Postharvest Biology and Technology**. v. 67, p. 102-109, 2012.
- BORDONABA, J. G.; CANTIN, C.; LARRIGAUDIÈRE, L. L.; LÓPEZ, R.; ECHEVERRIA, G. Suitability of nectarine cultivars for minimal processing: The role of genotype, harvest season and maturity at harvest on quality and sensory attributes. **Postharvest Biology and Technology**. v. 93, p. 49-60, 2014.
- CARVALO, I. T. **Microbiologia dos alimentos**. Recife: EDUFRPE, 84p. 2010
- CHAIMSOHN, F. P. **Cultivo de pupunha e produção de palmito**. Viçosa: Aprenda Fácil, 121p. 2000.

CHAMPA, W. A. H.; GILL, M. I. S.; MAHAJAN, B.V.C.; ARORA, N.K. Postharvest treatment of polyamines maintains quality and extends shelf-life of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Flame Seedless. **Postharvest Biology and Technology**. v. 91, p 57–63, 2014.

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

CLEMENTE, C. R; MORA, U. J.. Pejibaye palm (*Bactris gasipaes*, Arecaceae): multi-use potencial for the lowland humid tropics. **Economic Botany**, v.41, p. 302-311, 2002.

CLEMENT, C. R.; SANTOS, L. A.; ANDRADE, J. S. Conservação de palmito de pupunha em atmosfera modificada. **ACTA Amazônica**, v. 29, n. 3, p. 437-445, 1999.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: Biometria**. Editora UFV. Viçosa (MG). 382p. 2006.

CUADROS-INOSTROZA, A.; CALDANA, C.; REDESTIG, H.; KUSANO, M.; LISEC, J.; PEÑA-CORTÉS, H. Target Search - a Bioconductor package for the efficient preprocessing of GC-MS metabolite profiling data. **Bioinformatics**, v. 10, p.428, 2009.

EMBRAPA. **Processamento do Palmito de Pupunheira em Agroindústria Artesanal - Uma atividade rentável e ecológica**, 2004. Disponível em: <http://www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/sistemasdeproducao/pupunha/colheita.htm>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2015

ESPÍN, J. C.; GARCÍA-RUIZ, P. A.; TUDELA, J. VARÓN, R.; GARCÍA-CÁNOVAS, F. Monophenolase and diphenolase reaction mechanisms of apple and pear polyphenol oxidases. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 46, p. 2968–2975, 1998.

FERNIE, A. R.; AHARONI, A.; WILLMITZER, L.; STITT, M.; TOHGE, T.; KOPKA, J.; CARROLL, A.J.; SAITO, K.; FRASER, P. D.; DELUCA, V. Recommendations for reporting metabolite data. **Plant Cell**, v. 23, p. 2477–2482, 2011.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; Ascensão, L. **Histoquímica e Citoquímica em Plantas: Princípios e Protocolos**, Lisboa, 1ª Edição. Edição Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal, 2007. 66p.

FIEHN, O. Metabolomics the link between genotypes and phenotypes. **Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 155–171, 2002.

FONSECA, K. S. **Caracterização físico-química, anatômica de palmito pupunha para processamento mínimo**. 2012. 42p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia vegetal) Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG.

HÄUSLER, R. E.; LUDEWIG, F.; KRUEGER, S. Amino acids - a life between metabolism and signaling. **Plant Science**, v. 229, p.225–237, 2014.

HILDEBRANDT, T. M.; NUNES NESI, A.; ARAÚJO, W. L.; BRAUN, H-P. Amino Acid Catabolism in Plants. **Molecular Plant**. v. 8, p.1563–1579, 2015.

HOJEJE, Y. K. APPCC no plantio e na industrialização do palmito. Necessidade ou obrigação? **Revista Higiene Alimentar**, v. 20, n. 139, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1ª Edição Digital.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2016. Produção brasileira de palmito. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default>>. Acessado em 4 de Janeiro de 2016.

JIANG, Y. M.; CHEN, F. A study on polyamine change and browning of fruit during cold storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). **Postharvest Biology and Technology**. v. 5, p 245–250, 1995.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw Hill Book. 1940. 523p.

KADER, A. A. (Ed.). **Postharvest technology of horticultural crops**. 3rd ed. Oakland: ANRCS, 2002.535 p.

KADER, A. A. Respiration and gas exchange of vegetables. In: WEICHMANN, J. (ed.) **Postharvest Physiology of Vegetables**, New York.: Marcel Dekker Inc., 1987. p. 25- 43.

KAPP, E. A.; PINHEIRO, J. P.; RAUPP, D. S.; CHAIMSOHN, F. P. Tempo de preservação de tolete de palmito pupunha (*Bactris gasipaes*) minimamente processado e armazenado sob refrigeração. **Publicatio**, Ponta Grossa, v. 9, n. 3, p. 51-57, 2003.

KIM, S.; KIM, J.; YUN, E. J.; KIM, K. H. Food metabolomics: from farm to human. **Current Opinion in Biotechnology**. Seoul, v.37, p.16–23, 2016.

KOPKA, J.; SCHAUER, N.; KRUEGER, S.; BIRKMEYER, C.; USADEL, B.; BERGMULLER, E.; GMD@CSB. DB: the Golm Metabolome Database. **Bioinformatics**, v.21, p.1635–1638, 2005.

LISEC, J.; SCHAUER, N.; KOPKA, J.; WILLMITZER, L.; FERNIE, AR - **Nature Protocols**-Electronic Edition-, 2006.

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia vegetal**. 2009. Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. 3ª ed, Viçosa: UFV, 451p.

- MORETTI, C. L. **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007. 531p.
- MORO, J. R. **Produção de palmito pupunha**, Viçosa: CPT, 1996. 28 p. (CPT), Agricultura, manual, 87.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal Chromatography A**. 1054, p.95-111, 2004.
- NISHIKAWA, M. A. M.; MORO, J. R.; BANDEL, G. **Cultura da pupunha para produção de palmito**. Piracicaba: ESALQ, 1998. 31p. (Série Produtor Rural 6).
- OBATA, T.; FERNIE, A.R. The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v. 69, p.3225–3243, 2012.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, v.59, n 2, p. 368-373, 1964.
- OMS-OLIU, G.; HERTOOG, M. L. A. T. M.; POEL, B. VAN DE; AMPOFO-ASIAMA, J.; GEERAERD, A. H.; NICOLAI, B. M. Metabolic characterization of tomato fruit during preharvest development, ripening, and postharvest shelf-life. **Postharvest Biology and Technology**. v.62, p. 7–16, 2011.
- PEDROZA, C. M. **Perfil de isoenzimas e atividade da peroxidase e polifenoxidase em palmito de pupunha minimamente processado**. 2013. 54p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa.
- PEÑALVER, M. J.; FENOLL, L. G.; RODRÍGUEZ-LÓPEZ, J. N.; GARCÍA-RUIZ, P. A.; GARCÍA-MOLINA, F.; VARÓN, R.; GARCÍA-CÁNOVAS, F.; TUDELA, J. Reaction mechanism to explain the high kinetic autoactivation of tyrosinase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 33, p. 35–42, 2005.
- PEREIRA-FLORES. M. E.; MELO, A. A. M.; ZERDAS, E. R. M., FONSECA, K. S.; PUSCHMANN, R. **Germinação, colheita, pós-colheita e processamento mínimo de palmito pupunha**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 18p. Apostila 82ª Semana do Fazendeiro.
- PEREIRA, R.A.; ESEMANN-QUADROS, K. Comparação anatômica de palmitos em conserva de *Archontophoenix alexandrae* (F. Mueller) H. Wendl. Et Drude e *Bactris gasipaes* H.B.K. (Arecaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 1, p. 330-332, 2007.

PÉREZ-VICENTE, A.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; CARBONELL, A.; SERRANO, M.; RIQUELME, F.; GUILLÉN, F.; VALERO, D. Role of polyamines in extending shelf life and the reduction of mechanical damage during plum (*Prunus salicina* Lindl.) storage. **Postharvest Biology and Technology**. v. 25, p 25–32, 2002.

PRATELLI, R.; AND PILOT, G. Regulation of amino acid metabolic enzymes and transporters in plants. **Journal of Experimental Botany**. v. 65, p.5535–5556, 2014.

RIZZINI, F.M; BONGHI, C.; TONUTTI, P. Postharvest water loss induces marked changes in transcript profiling in skins of wine grape berries. **Postharvest Biology and Technology**. v.52, p. 247–253, 2009.

ROESSNER, U.; BOWNE, J. What is metabolômicas all about? **Biotechniques**, v. 46, p. 363-365, 2009.

ROESSNER, U.; LUEDEMANN, A.; BRUST, D.; FIEHN, O.; LINKE, T.; WILLMITZER, L.; FERNIE, A. R. Metabolic profiling allows comprehensive phenotyping of genetically or environmentally modified plant systems. **Plant Cell**, v.13, p.11-29, 2001.

SAMPAIO, L. C.; NETO, S. N. O.; LELES, P. S. S.; SILVA, J. A.; VILLA E. B. Análise técnica e econômica da produção de palmito de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth.) e de palmeira-real (*Archontophoenix alexandrae* Wendl. & Drude). **Revista Floresta e Ambiente**, v. 14, n. 1, 2007.

SANT'ANNA-SANTO, B. F.; THADEO, M.; MEIRA, R. M. S.; Ascensão, L. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de spondias dulcis forst. f. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**. Viçosa-MG, v.30, n.3, p.481-489, 2006.

SIMÕES, A. N.; VENTRELLA, M. C.; MORETTI, C. L.; MARCELO, A. G.; CARNELOSSI, M. A. G.; PUSCHMANN, R. . Anatomical and physiological evidence of white blush on baby carrot surfaces. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, p.45–52, 2010.

SIMÓN, A.; GONZÁLEZ-FANDOS, E.; TOBAR, V. The sensory and microbiological quality of fresh sliced mushroom (*Agaricus bisporus* L.) packaged in modified atmospheres. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 40, p. 943–952, 2005.

SOLIVA-FORTUNY, R. C.; MARTÍN-BELLOSO, O. New advances in extending the shelf-life fresh-cut fruits: a review. **Trends in Food Science & Tecnology**, v. 14, p.341-353, 2003.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of prunus domestica. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, p. 63-68, 1959.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Trad. Santarém, E. R. et. al. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TOMLINSON, P. B. **The structural biology of palms**. New York: Clarendon Press Oxford. 1990. 492 p.

VANDENDRIESSCHE, T.; SCHÄFER, H.; VERLINDEN, B. E.; HUMPFER, E.; HERTOOG, M. L. A. T. M.; NICOLAÏ, B. M. High-throughput NMR based metabolic profiling of Braeburn apple in relation to internal browning. **Postharvest Biology and Technology**. v. 80, p 18–24, 2013.

YUYAMA, K. Comportamento de 34 acessos de pupunheiras selecionadas por meio de números de perfilhos e precocidade para produção de Palmito. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES DA AMAZÔNIA E CO-DESENVOLVIMENTO DA AMAZÔNIA, 8., 1996, Porto Velho. **Anais...** 1996. Porto Velho-RO.