

**ADRIANO DO NASCIMENTO SIMÕES**

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICO-FISIOLÓGICA E  
CONSERVAÇÃO DE CENOURA MINIMAMENTE  
PROCESSADA**

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  
2008

ADRIANO DO NASCIMENTO SIMÕES

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICO-FISIOLÓGICA E  
CONSERVAÇÃO DE CENOURA MINIMAMENTE  
PROCESSADA**

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 EM: 25 de fevereiro de 2008

---

Celso Luiz Moretti

---

Dimas Mendes Ribeiro

---

Prof.<sup>a</sup> Marília Contin Ventrella  
(Co-orientadora)

---

Prof. Marcelo Augusto G. Carnellosi  
(Co-orientador)

---

Prof. Rolf Puschmann  
(Orientador)

À minha esposa Diana que esteve sempre ao meu lado, incondicionalmente, em todas as minhas decisões, com todo o amor.

Algo só é impossível até que alguém duvide e acabe provando o contrário.  
(Albert Einstein)

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por tudo.

Aos meus pais José Edvaldo e Maria Leuda.

Aos meus irmãos Adriana Matias e André Simões.

Aos meus sogros Francisco Felismino e Maria do Socorro.

Aos meus cunhados Liana Freitas, Daniel Freitas e Eliziano Matias.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Biologia Vegetal, pela oportunidade que me foi concedida para a realização do Curso de Doutorado.

Aos colegas pesquisadores e amigos do Centro de Edafologia y Biología Aplicada del Segura (CEBAS) em Múrcia, Espanha, pela oportunidade do Estágio Sandúiche, ensinamentos e amizades.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro no Brasil e no Exterior.

Ao professor e amigo Rolf Puschmann, pela orientação, amizade e pela profunda contribuição ao meu desenvolvimento profissional.

Aos professores Raimundo Barros, Marcelo Carnellosi, Marília Ventrella, Celso Moretti, Cristina Vanetti, Nilda Soares, Ricardo Henrique Santos, pelos ensinamentos e pelas valiosas contribuições.

Aos colegas de laboratório, em especial, Franciscleudo, Silvino, Leonardo, Diane, Fernanda, Rose, Angélica e Mônica, que muito ajudaram na realização deste trabalho.

Aos meus colegas de futebol, pela amizade ao longo do curso e pelos jogos de futebol ganhos e perdidos.

Aos funcionários do laboratório, pelas sugestões, quando solicitadas.

Aos docentes da Fisiologia Vegetal, pelos ensinamentos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos também àqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta obra.

## **BIOGRAFIA**

ADRIANO DO NASCIMENTO SIMÕES, filho de José Edvaldo Simões e Maria Leuda do Nascimento Simões, nasceu em 21 de novembro de 1978, em Aracati - CE. Coursou o nível fundamental e o 1º ano do nível médio no Colégio Instituto São José, na mesma cidade, e o 2º e 3º ano do nível médio, no Colégio Marista de Aracati - CE, concluindo em 1995. Em março de 1997, ingressou na Escola Superior de Agricultura de Mossoró - RN, onde participou de programas de monitorias, estágios e bolsa de iniciação científica do CNPq, bolsa balcão e PIBIC, por um período de três anos e meio. Graduou-se Engenheiro Agrônomo em dezembro de 2001. De março de 2002 a fevereiro de 2004, fez o Curso de Mestrado em Fisiologia Vegetal na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG, com ênfase em fisiologia pós-colheita de couve minimamente processada. Em março de 2004, iniciou o Doutorado na mesma Instituição e no mesmo Programa. De novembro de 2006 a agosto de 2007, fez um Estágio Sanduíche em Nível de Doutorado no Centro de Edafología e Biología Aplicada Del Segura (CEBAS-CSIC) em Múrcia, Espanha. Em fevereiro de 2008 submeteu-se à defesa de tese de Doutorado.

## CONTEÚDO

<b>RESUMO</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>CAPÍTULO 1 – EVIDÊNCIAS ANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS ACERCA DO ESBRANQUECIMENTO NA SUPERFÍCIE DE MINICENOURA</b> .....	3
<b>RESUMO</b> .....	3
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	7
2.1. Matéria-prima.....	7
2.2. Processamento mínimo.....	7
2.3. Conservação refrigerada sem filme PVC.....	7
2.4. Reidratação de minicenoura conservada sem filme PVC.....	8
2.5. Conservação refrigerada com filme PVC.....	8
2.6. Avaliações físicas.....	8
2.7. Avaliação fisiológica.....	9
2.8. Avaliação estrutural e histoquímica.....	9
2.9. Análises estatísticas.....	10
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	11
3.1. Esbranquecimento e desidratação.....	11
3.2. Reidratação de minicenoura.....	14
3.3. FAL (EC 4.3.1.5.).....	16
3.4. Microscopia de luz.....	18
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	24
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	25
<b>CAPÍTULO 2 – ATMOSFERA CONTROLADA INFLUENCIA A ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E OS COMPOSTOS FITOQUÍMICOS, MAS NÃO GARANTE QUALIDADE EM MINICENOURA DURANTE SUA CONSERVAÇÃO REFRIGERADA</b> .....	30
<b>RESUMO</b> .....	30
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	32
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	34
2.1. Matéria prima e atmosferas.....	34
2.2. Produção de CO <sub>2</sub> .....	34
2.3. Extração e análises de ácido ascórbico (AA) e ácido dehidroascórbico (ADHA).....	34
2.4. Extração e análises dos carotenóides.....	35
2.5. Extração, identificação e quantificação dos compostos fenólicos.....	36
2.6. Avaliação sensorial.....	37
2.7. Análises estatísticas.....	39
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
3.1. Produção de CO <sub>2</sub> .....	40
3.2. Ácido ascórbico (AA) e ácido dehidroascórbico.....	41

(ADHA).....	
3.3. Carotenóides.....	43
3.4. Compostos fenólicos.....	45
3.5. Avaliação sensorial.....	50
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>53</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>54</b>
<b>CAPÍTULO 3 – REVESTIMENTO COMESTÍVEL CONTENDO QUITOSANA, ASSOCIADO À ATMOSFERA MODIFICADA MANTÉM QUALIDADE E ALTERA ACÚMULO DE FITOQUÍMICOS EM CENOURA-BASTÃO.....</b>	<b>60</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>60</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>62</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>65</b>
2.1. Matéria prima e processamento mínimo.....	65
2.2. Imersão em suspensão de revestimento comestível.....	65
2.3. Produção de CO <sub>2</sub> .....	66
2.4. Revestimento comestível de cenoura-bastão e conservação em atmosfera modificada.....	66
2.5. Composição interna de oxigênio (O <sub>2</sub> ) e dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ).....	66
2.6. Extração e análises de ácido ascórbico (AA) e ácido dehidroascórbico (ADHA); extração e análises dos carotenóides e extração, identificação e quantificação dos compostos fenólicos e avaliação sensorial.....	67
2.7. Avaliação microbiológica.....	67
2.8. Análises estatísticas.....	67
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>69</b>
3.1. Produção de CO <sub>2</sub> e composição interna de O <sub>2</sub> e CO <sub>2</sub> .....	69
3.2. Ácido ascórbico (AA) e ácido dehidroascórbico (ADHA).....	73
3.3. Carotenóides.....	74
3.4. Compostos fenólicos.....	76
3.5. Avaliação sensorial.....	82
3.6. Avaliação microbiológica.....	85
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>88</b>
<b>5. CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>89</b>
<b>6. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>90</b>

## RESUMO

SIMÕES, Adriano do Nascimento, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2008. **Caracterização anatômico-fisiológica e conservação de cenoura minimamente processada.** Orientador: Rolf Puschmann. Co-orientadores: Maria Isabel Gil Muñoz; Marília Contin Ventrella e Marcelo Augusto G. Carnelossi.

O objetivo desse trabalho foi caracterizar o processo de desidratação, o esbranquecimento e a localização histológica da suberina, lignina e de compostos fenólicos, avaliando sua contribuição no esbranquecimento superficial de minicenoura. Foram avaliados os efeitos das atmosferas controladas compostas por 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub>; 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> e 10 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>. Todos com balanço com N<sub>2</sub> e ambiente e atmosferas modificadas associadas ao uso de revestimento comestível antimicrobiano, na conservação refrigerada de cenoura minimamente processada. A percepção do esbranquecimento ocorreu nas primeiras horas do processamento mínimo para minicenouras que não foram embaladas e nos primeiros dias quando embaladas em filme de cloreto de polivinila a 5 °C e 90 ± 5 % UR. Esse fato ocorreu simultaneamente à desidratação, percebendo-se perdas mínimas de água em minicenouras, suficientes para comprometer sua aparência, em virtude do esbranquecimento. Ainda que feitas reidratações na superfície da minicenoura, dependendo da intensidade da desidratação, os sintomas podem não ser revertidos, sugerindo que a reversão do esbranquecimento não é indefinida. Observou-se que a indução da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) no tecido superficial do floema secundário de minicenoura não está relacionada ao acúmulo de lignina, e sim à síntese de compostos fenólicos precursores. Portanto, a lignina não está associada ao esbranquecimento na superfície de minicenoura. Quando se conservou minicenoura em atmosferas ambiente, sua qualidade total foi alterada pelo sabor, devido à percepção do amargor e pela aparência, com base na evolução do esbranquecimento na superfície. Observou-se que minicenouras submetidas às atmosferas de 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub> e 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>, balanço N<sub>2</sub>, resultaram em poucas alterações no sabor, no conteúdo dos ácidos ascórbico e dehidroascórbico, dos

carotenóides totais e dos compostos fenólicos. A atmosfera de 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>, por possibilitar uma menor taxa de respiração anaeróbica, apresentou-se adequada para conservação de minicenoura, ao longo de 12 dias, em relação à atmosfera de 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub>, caso ocorra alteração na temperatura durante a logística de distribuição ou mesmo nas gôndolas dos supermercados. Em todos os casos, o controle da atmosfera não foi suficiente para manter a qualidade total de minicenoura mostrando esbranquecimento na sua superfície. Por outro lado, esse sintoma foi minimizado com o uso de revestimento comestível. Cenoura tipo bastão, com revestimento comestível contendo amido e quitosana, em associação com a atmosfera modificada por dois filmes (A e B) de distintas permeabilidades ao O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, manteve a cor laranja original na superfície, não apresentou sabor estranho e se manteve com qualidade microbiológica aceitável. O metabolismo respiratório, além da vitamina C, dos carotenóides totais e dos compostos fenólicos totais e seus componentes individuais, foi alterado. Nas condições estudadas, cenouras tipo bastão que receberam revestimento comestível e foram embaladas com o filme A, com maior permeabilidade a O<sub>2</sub>, mantiveram, por um maior período, qualidades sensorial e microbiológica aceitáveis.

## ABSTRACT

SIMÕES, Adriano do Nascimento, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, february, 2008. **Anatomic and physiological characterization and conservation of minimally processed carrots.** Adviser: Rolf Puschmann, Co-adversers: Maria Isabel Gil Muñoz; Marília Contin Ventrella and Marcelo A. G. Carnelossi.

The objective of this study was to characterize the dehydration, white blush and histological location of suberin, lignin and phenolic compounds and assess their contribution to superficial white blush in baby carrots. The effects were assessed of the controlled atmospheres consisting of 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub>, 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> and 10 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>, all with N<sub>2</sub> and environment balance; and modified atmospheres associated to the use of antimicrobial edible covering, in chilled baby carrot storage. White blush was observed in the first hours of minimal processing for baby carrots that were not packed and in the first days when packed in polyvinyl chloride film at 5 °C and 90 ± 5 % relative humidity. This fact occurred simultaneously with dehydration and minimal water losses were observed in the baby carrots that were sufficient to damage their appearance, because of the white blush. Although the mini carrot surface was rehydrated, depending on the intensity of the dehydration, the symptoms could not be reverted, suggesting that reversion of white blush is not undefined. It was observed that phenilalanine ammonia-lyase (PAL) activity in the surface tissue of the baby carrot secondary phloem was not related to lignin accumulation but to precursor phenolic compounds. Therefore, lignin is not associated to white blush on the baby carrot surface. When baby carrots were stored in environment atmosphere, their total quality was altered by the flavor, due to perception of bitterness, and by their appearance, based on the evolution of white blush on the surface. It was observed that baby carrots submitted to atmospheres of 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub> and 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> balance, had few alterations in flavor, ascorbic acid contents, dehydroascorbic acid, total carotenoids and phenolic compounds. The 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> atmosphere, because it permitted less probability of anaerobic respiration, was a suitable atmosphere for baby

carrot storage, for 12 days, compared to the 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub>, atmosphere, if the temperature altered during the distribution logistics or even on the supermarket shelves. In all the cases, atmosphere control was not sufficient to maintain the total baby carrot quality and white blush showed on the surface. On the other hand, this symptom was minimized with the use of edible covering. Carrots cut in sticks, with edible covering containing starch and chitosan, in association with the atmosphere modified by two films (A and B) with different permeability to O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub>, maintained the original orange color of the surface, did not present strange flavor and maintained acceptable microbiological quality. The respiratory metabolism was altered, along with vitamin C, total carotenoids the phenolic compounds and their individual components. Under the conditions studied, stick carrots that were covered with edible film and packed with film A with greater O<sub>2</sub> permeability, kept acceptable sensorial and microbiological qualities for a longer period.

## INTRODUÇÃO GERAL

Tecnologias de processamento e de conservação vêm sendo adequadas para cenoura minimamente processada, uma das hortaliças minimamente processadas mais consumidas e estudadas no mundo. O esbranquecimento na superfície da minicenoura é um dos principais problemas limitantes na comercialização, pois afeta diretamente sua aparência. Caracterizar a formação de lignina, suberina e compostos fenólicos, visualizando histologicamente sua localização e sua contribuição para o esbranquecimento, poderão contribuir com informações importantes somando-se àquelas conhecidas desde a década passada em cenoura minimamente processada.

Além da aparência, seus componentes fitoquímicos, representados pelos carotenóides totais, vitamina C e compostos fenólicos contribuem na qualidade nutricional e importância funcional. Esses assuntos vêm sendo temas de pesquisas e trabalhos por diferentes grupos de investigação do mundo. É importante mencionar que a qualidade do ponto de vista sensorial e microbiológica vem, que desde a década de 90 sendo alvo de pesquisas com bases tecnológicas; bem como a conservação em distintas condições atmosféricas compostas por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e o uso de revestimentos comestíveis com antimicrobianos. Logo, a aplicação de algumas dessas tecnologias pode promover mudanças desejáveis nos componentes fitoquímicos, manter a cenoura minimamente processada comercializável por mais tempo na prateleira de supermercados com segurança alimentar e assim garantir redução de perdas e de sustentabilidade do setor agroindustrial.

Os objetivos específicos desse trabalho foram: 1) caracterizar o processo de desidratação, esbranquecimento e a localização histológica da suberina dos compostos fenólicos e da lignina, avaliando sua contribuição no esbranquecimento superficial em minicenoura; 2) avaliar alterações na respiração e nos componentes fitoquímicos, em minicenouras conservadas em atmosferas controladas compostas por diferentes níveis de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>; e 3) avaliar mudanças na respiração, na atmosfera interna da embalagem, na qualidade sensorial e microbiológica e nos componentes fitoquímicos de cenouras tipo bastão, submetidas a revestimentos comestíveis contendo agentes antimicrobianos e

conservadas em embalagens com diferentes características de permeabilidades a oxigênio e a dióxido de carbono.

## **CAPÍTULO 1**

### **EVIDÊNCIAS ANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS ACERCA DO ESBRANQUECIMENTO NA SUPERFÍCIE DE MINICENOURAS**

#### **RESUMO**

Neste trabalho, são caracterizados os processos de desidratação, esbranquecimento, alterações estruturais e síntese de compostos fenólicos, lignina e suberina, relacionando a contribuição de cada processo no esbranquecimento da superfície de minicenouras. Cenouras foram minimamente processadas na forma de minicenouras e mantidas dentro de bandejas de polipropileno sem ou com filme de cloreto de polivinila (PVC) a  $5 \pm 2$  °C,  $90 \pm 5$  % UR. Durante a conservação, minicenouras que não foram embaladas com filme de PVC foram reidratadas após 1; 1,5; 15 e 17 horas pós-processamento mínimo. Foram realizadas avaliações físicas, caracterizadas pelo índice de esbranquecimento, por notas sensoriais visuais de esbranquecimento e pela perda de massa fresca; avaliação fisiológica caracterizada pela atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) e avaliações estruturais e histoquímicas por meio de microscopia de luz. O aumento nos valores do índice de esbranquecimento e nas notas subjetivas de esbranquecimento visual na superfície de minicenouras, ocorreu nas primeiras horas, quando o material foi mantido em bandejas sem filme e de três a seis dias, quando conservado em bandejas com filme. A avaliação visual do esbranquecimento, por proporcionar percepção de pequenas diferenças entre distintos níveis de esbranquecimento, principalmente nas extremidades, resultou em uma avaliação mais acurada, em relação à avaliação instrumental. As hidratações na superfície de minicenouras realizadas após 1 e 1,5 horas, possibilitaram absorção parcial de água dos tecidos, restabelecendo a cor laranja na superfície. Com 15 horas após o processamento, mesmo após reidratações, a cor não voltou ao padrão laranja original. O rápido aumento na atividade da FAL na região de 2,5 mm superficiais do floema secundário de minicenouras, em relação ao de raízes inteiras, sugere uma resposta

fisiológica, como resultado da abrasão. A desidratação e as alterações estruturais das camadas de células mais superficiais são os principais causadores do esbranquecimento em minicenouras, que não está relacionado ao acúmulo de lignina ou suberina, mas à síntese de compostos fenólicos não-estruturais.

## 1. INTRODUÇÃO

Minicenouras são cenouras processadas cruas, que foram selecionadas, lavadas, cortadas em pedaços de 5 a 6 cm de comprimento, torneadas, sanitizadas em água clorada fria, centrifugadas e embaladas (Bolin e Huxoll, 1991; Avena-Bustillos et al., 1994). Esse tipo de produto processado também foi denominado há alguns anos, nos Estados Unidos, como ‘baby carrot’, mas, atualmente vem sendo um termo pouco usado nesse país, por ser confundido com cenouras colhidas pequenas no início do ciclo, e não minimamente processadas (Moretti e Mattos, 2007).

No Brasil, a cada ano, a minicenoura vem tornando-se um produto minimamente processado procurado por empreendedores agroindustriais e consumidores, em virtude da alta agregação de valor e de sua atratividade. Porém, alguns entraves tecnológicos durante a conservação, como esbranquecimento na superfície, podem comprometer a aceitação e conseqüentemente sua comercialização.

Os primeiros trabalhos publicados na década de 90 por Tatsumi et al. (1991; 1993) sugeriram que o esbranquecimento ocorria devido a desidratação superficial e, portanto, resultante de um fenômeno físico. Alguns anos depois, Cisneros-Zevallos et al. (1995) confirmaram a alta relação entre desidratação e esbranquecimento. Os mesmos autores concluíram que, a curto prazo, o esbranquecimento era reversível, ou seja, reidratando a minicenoura, a mesma retornava à coloração laranja original. Mas, a longo prazo, esse processo não acontecia, levando os mesmos autores a sugerir a ocorrência de um evento fisiológico.

Na mesma década, outra linha de pesquisa iniciada por Bolin e Huxoll (1991; 1992), e anos depois por Horward e Griffin (1993) e Horward et al. (1994), sugeriram que o esbranquecimento superficial de cenouras descascadas estava relacionado à alteração no metabolismo fenólico, resultado da deposição de lignina na superfície. Algumas enzimas seriam importantes como a fenilalanina amônia-liase, conhecida como FAL, peroxidase (POD) dentre outras (Howard e Griffin, 1993). Por outro lado, resultados publicados por Avena-Bustillos et al. (1994) sugeriram que o esbranquecimento em cenouras descascadas era resultado essencialmente da

desidratação, e os mesmos relataram que os outros autores poderiam ter gerado confusão, pois a desidratação e a lignificação podem ocorrer independentemente, e não resultarem em esbranquecimento.

Ainda que tenham sido intensos os estudos sobre esbranquecimento de cenouras minimamente processadas por diferentes grupos do mundo, na maioria das vezes foram utilizadas ferramentas físico-químicas, bioquímicas e da fisiologia. Raros foram os estudos que utilizaram ferramentas da anatomia vegetal. Em alguns trabalhos relataram-se manchas vermelho-púrpura na superfície de minicenouras, caracterizadas por reação entre lignina e floroglucinol, não mostrando cortes anatômicos (Bolin e Huxoll, 1991; Howard e Griffin, 1993). Além disso, recentes resultados obtidos por microscopia eletrônica de varredura, evidenciaram lignificação em tecidos de cenoura minimamente processados (Rico et al., 2007)

A histoquímica possibilita identificação de substâncias químicas bem como sua localização nas células e tecidos vegetais, como tem sido utilizado em batata e cenoura para identificação de lignina e suberina, respectivamente (Walter e Schadel, 1983; Simões et al., 2007).

Após 15 anos dos primeiros estudos sobre esbranquecimento, poucos são os estudos que enfocam esse tema, continuando duvidosa a contribuição da lignina no esbranquecimento, uma vez que tal evento ocorre rapidamente, com pouco tempo para a indução de uma resposta fisiológica.

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar o processo de desidratação, esbranquecimento e a localização histológica de suberina, compostos fenólicos e lignina, avaliando sua contribuição no esbranquecimento na superfície de minicenouras.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Matéria-prima

Plantas de cenoura (*Daucus carota* L. cv. Esplanada) foram cultivadas na Horta da Universidade Federal de Viçosa e colhidas, aos 90 dias após o plantio. As cenouras foram lavadas em água corrente e selecionadas. Um lote de cenouras foi mantido inteiro e outro foi minimamente processado.

### 2.2. Processamento mínimo

Cenouras, com até 2 cm de diâmetro, foram cortadas em pedaços de 5 a 6 cm de comprimento, selecionadas e torneadas com auxílio de uma torneadora PCE SKYMSSEN<sup>®</sup> ETERNA<sup>®</sup>, em duas fases. A primeira fase com lixas abrasivas (60 mesh), e a segunda, com lixas de gramatura mais fina (100 mesh), ambas por 1,0 minuto obtendo-se minicenouras (Lana et al., 2001)

As minicenouras foram submetidas ao enxágüe inicial (imersão rápida em água a 5 °C), seguido de imersão em água contendo 200 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo (Dicloro-S-Triazinatriona Sódica Diidratada), a 5 ± 2 °C, por 10 minutos. O enxágüe final foi realizado imergindo as minicenouras em água contendo 3 mg L<sup>-1</sup> de cloro ativo, a 5 ± 2 °C, por 10 minutos. Em seguida, minicenouras foram centrifugadas por 15 segundos, em centrífuga de velocidade angular de 251,33 rad s<sup>-1</sup>, sem carga.

### 2.3. Conservação refrigerada sem filme PVC

Cenouras inteiras e minicenouras foram mantidas, sem filme de cloreto de polivinila (PVC), em expositores a 5 ± 2 °C e 90 ± 5 % de UR, por 36 horas. Avaliou-se em 0; 2; 4; 6; 12; 24 e 36 horas o índice de esbranquecimento (IE), o esbranquecimento visual, a perda de massa fresca, a atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) e as alterações estruturais e histoquímicas nas cenouras inteiras e em minicenouras.

## 2.4. Reidratação de minicenoura conservada sem filme PVC

Foram selecionadas minicenouras com 5 cm de comprimento e  $1,5 \pm 0,1$  cm de diâmetro e mantidas em condição de  $5 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % de UR, sem filme PVC. Após 1,0; 1,5; 15 e 17 horas, do processamento mínimo, realizaram-se hidratações na superfície, utilizando 3 mL de água destilada em cada minicenoura (volume definido a partir de testes preliminares). Determinou-se o índice de esbranquecimento (IE), esbranquecimento visual e massa fresca.

## 2.5. Conservação refrigerada com filme PVC

Minicenouras foram mantidas em bandejas de polipropileno de 90 x 170 x 25 mm (largura x comprimento x altura), envoltas em filme de cloreto de polivinila (12  $\mu$ m de espessura); com permeabilidade a vapor de água de  $300 \text{ g. m}^{-2}\text{dia}^{-1}$ ; taxa de permeabilidade ao oxigênio de  $15.680 \text{ cm}^3\text{m}^{-2}\text{dia}^{-1}$ ; e taxa de permeabilidade ao gás carbono de  $80.520 \text{ cm}^3\text{m}^{-2}\text{dia}^{-1}$ . As minicenouras embaladas foram mantidas a  $5 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % de UR, por 21 dias. Avaliou-se a cada três dias, o índice de esbranquecimento (IE), a perda de massa fresca, a atividade da FAL e as variações estruturais e histoquímicas nas cenouras inteiras e em minicenouras.

## 2.6. Avaliações Físicas

Índice de esbranquecimento (IE)

Determinado de acordo com Bolin e Huxoll (1991), utilizando os parâmetros "L", "a" e "b" calculados indiretamente por meio da fórmula  $IE = 100 - [(100 - L)^2 + a^2 + b^2]^{1/2}$  fornecidos por um colorímetro digital (*Color reader* CR-10 Minolta).

Esbranquecimento visual

Realizado por meio de avaliações sensoriais visuais utilizando notas variando de 1 a 4. A nota 1- representou superfície de coloração laranja original, não esbranquecida; 2- início de esbranquecimento, 1 a 15 % da área superficial e nas extremidades, não comprometendo a qualidade; 2,5- esbranquecimento moderado (16 a 50 %); 3- esbranquecimento avançado (51 a 70%), limite de aceitação e 4- superfície extremamente embranquecida (71 a 100 %).

Massa fresca

Determinada por gravimetria em balança semi-analítica.

## **2.7. Avaliação fisiológica**

Extração e ensaio da FAL; EC 4.3.1.5.

Utilizou-se a região do floema secundário correspondente aos 2,5 mm superficiais, sem periderme, para a cenoura inteira e minicenoura.

A extração e o ensaio da FAL foram realizadas de acordo com Ke e Saltveit (1986), com adaptações. O extrato enzimático foi obtido homogeneizando-se 2,0 g do material vegetal em 5 mL de tampão borato de sódio (0,1 M) pH 8,8 contendo  $\beta$ -mercaptanol (5 mM), EDTA (2 mM) e polivinil pirrolidona insolúvel (PVPP) 1 % (p/v). Em seguida, o extrato foi filtrado em duas camadas de gaze e centrifugado a 25.000 g, por 20 minutos, a 4 °C.

No ensaio 1,5 mL de L-fenilalanina (60 mM) em tampão borato (0,1 M) pH 8,8 foi mantido antes da reação a 40 °C, por 15 min. Em seguida, adicionou-se 0,5 mL do extrato enzimático e, após 1 h de incubação a 40 °C, mediu-se a absorbância a 290 nm. Como controle, foi utilizado o extrato previamente fervido.

## **2.8. Avaliação estrutural e histoquímica**

Os estudos em microscopia de luz foram desenvolvidos no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFV. Porções superficiais foram coletadas de cenouras inteiras e minicenouras recém processadas, mantidas por 1 e 36 horas, pós-processamento, nas condições de  $5 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % de UR, sem embalagem. Foram coletadas, também, porções superficiais de cenoura inteira e de minicenoura, recém processadas, e minicenouras conservadas aos 10; 25 e 30 dias após processamento mínimo, nas condições de  $5 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % de UR, com embalagem.

Todo o material vegetal foi fixado em FAA<sub>50</sub> por 48 horas e mantidos em etanol 70 % (Johansen, 1940) até o processamento das amostras.

Para a análise estrutural, porções de 0,125 cm<sup>3</sup> da região superficial de cenouras inteiras e de minicenouras foram incluídas em metacrilato (Historesin-Leica), de acordo com as recomendações do fabricante, e seccionadas transversalmente em micrótomo rotativo com 8  $\mu$ m de espessura. O material foi corado com azul de toluidina (O' Brien, 1964) para metacromasia ou com azul de toluidina e lugol (Johansen, 1940), para evidenciar compostos fenólicos e amido, e montado em resina sintética (Permount).

Para a análise histoquímica, porções de 1 cm<sup>3</sup> da região superficial de cenouras inteiras e minicenouras, recém-processadas e após 30 dias de conservação foram

seccionadas em micrótomo de mesa, e submetidas a testes histoquímicos: floroglucina ácida (Johansen, 1940) para a detecção de lignina e sudan escarlate (Brundrett et al., 1991) para a detecção de compostos lipídicos, e montadas em gelatina glicerizada (Sass, 1958). O sudan escarlate também foi utilizado em material incluído em metacrilato e montado em gelatina glicerizada (O'Brien & McCully, 1981).

As imagens foram obtidas em fotomicroscópio (Olympus AX 70) com Sistema U-Photo.

## **2.9. Análises estatísticas**

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos a análises de variância. Foi aplicado o teste de Tukey, em nível de 5 % de probabilidade, para detecção de diferenças de médias entre tratamentos e das diferenças mínimas significativas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

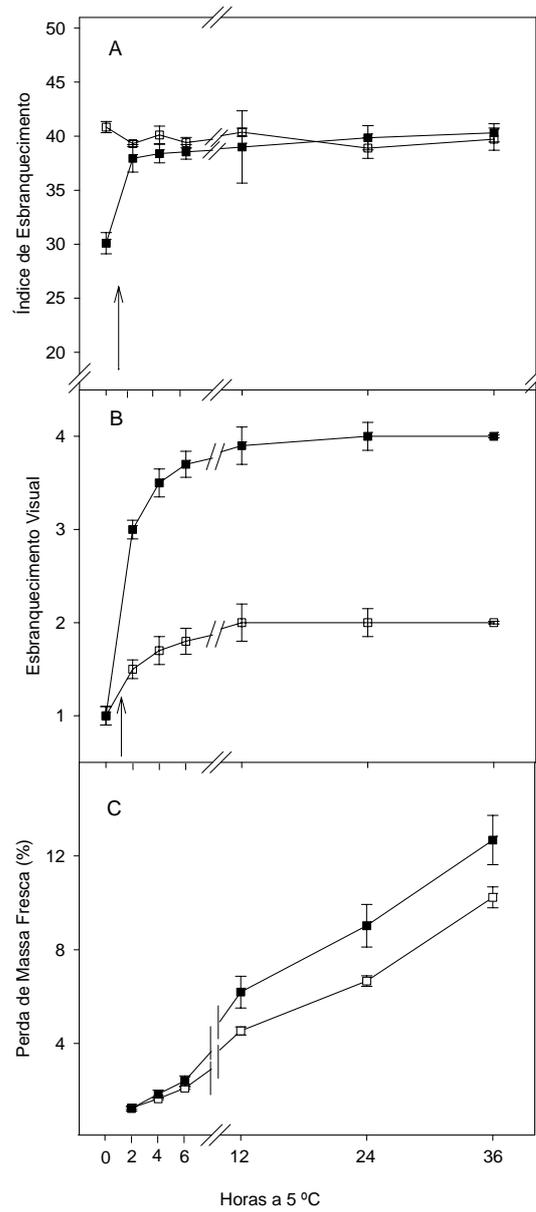
#### 3.1. Esbranquecimento e desidratação

O índice de esbranquecimento, de cenoura inteira, não foi alterado durante a conservação (Figura 1A). Para minicenoura, a partir de 1 hora, o esbranquecimento foi perceptível, principalmente, nas extremidades, quando foram mantidas em bandeja sem filme PVC (Figura 1A e B, setas; ver Figura 4B). Nas duas primeiras horas ocorreram incrementos no índice de esbranquecimento e na avaliação visual do esbranquecimento superficial (Figura 1A e B).

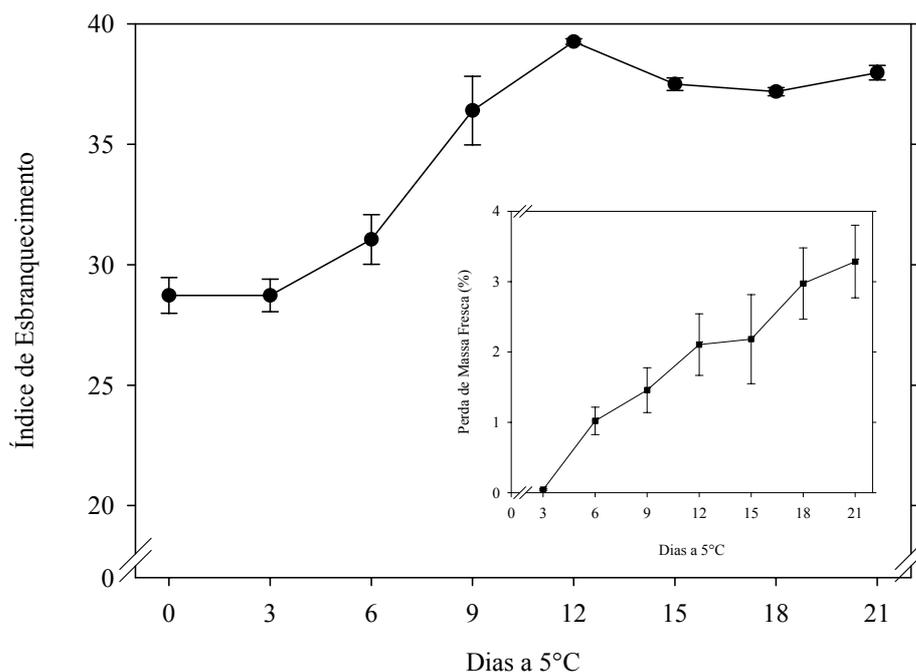
Quando minicenoura foi conservada utilizando badeiras com filme PVC, verificou-se que nos três primeiros dias, os valores médios do índice de esbranquecimento não foram alterados (Figura 2). A partir de três dias, também nas extremidades foram observados início de esbranquecimento.

A variação no tempo para percepção do esbranquecimento observado no presente trabalho, a partir de 1 hora quando minicenoura mantida sem PVC, e de três dias com PVC, demonstram a importância da barreira física para manter por um maior período de tempo a umidade superficial de cenoura minimamente processada e, assim, manter a qualidade do produto final. Logo os sintomas de esbranquecimento ocorreram em paralelo com o intenso aumento nos valores do índice de esbranquecimento, até duas horas, quando mantidas sem PVC (Figura 1A), e até nove dias, com PVC (Figura 1A e Figura 2).

Após duas horas, pequeno aumento foi observado no IE (Figura 1A). Por outro lado, na avaliação visual, após duas horas, as notas de esbranquecimento mudaram de 3 para 4 (nota máxima, Figura 1B). Dessa forma, sugere-se que a avaliação sensorial visual proporcionou uma melhor percepção dos diferentes graus de esbranquecimento na superfície de minicenouras, resultando em uma avaliação mais sensível. A avaliação instrumental, apresentou aumento no IE com a percepção do esbranquecimento na superfície, em ambas as condições de conservação (Figura 1A e Figura 2), com uma correlação de Pearson  $r = 0,61$  ao nível de 1 % de significância.



**Figura 1.** Índice de esbranquecimento (A) esbranquecimento visual (B) e perda de massa fresca (C) de cenoura inteira (□) e minicenouras (■) mantidas por 36 horas, sem embalagem, a 5 °C e UR de  $90 \pm 5$  %. As setas (↑) indicam início de esbranquecimento visual. As barras verticais representam desvio padrão da média oriunda de 3 repetições.



**Figura 2.** Índice de esbranquecimento e perda de massa fresca (gráfico interno) em minicenouras mantidas em bandejas de polipropileno envoltas por filme de polivinilcloreto e conservada a 5 °C e 90 ± 5 % UR., por 21 dias.

De modo geral, percebeu-se que a perda de cor laranja superficial em minicenouras iniciou-se nas extremidades, provavelmente, por ser uma região onde predomina xilema secundário exposto, que tem, por natureza, lignina nas paredes secundárias de algumas células (Esaú, 1940), que por sua vez, apresenta propriedades hidrofóbicas (Laschimke, 1989).

A perda de massa fresca foi similar nos dois tipos de cenouras após duas horas do processamento mínimo (Figura 1C). Entretanto, observando-se os valores de massa fresca, verificou-se perda de massa fresca em torno de  $1,25 \pm 0,1$  % para minicenoura e para cenoura inteira cerca de  $1,23 \pm 0,1$  % de perda. Além disso, no final de 36 horas, a diferença entre a variação da perda de massa fresca entre os tipos de cenouras foi de aproximadamente 3 %.

Esses resultados indicam a importância da periderme em manter elevada a resistência à difusão de vapor de água em cenoura inteira (Soliday et al., 1979), existindo diferenças marcantes na perda de massa fresca entre os dois tipos de cenouras, o que provavelmente, pode influenciar o intenso esbranquecimento observado para minicenouras.

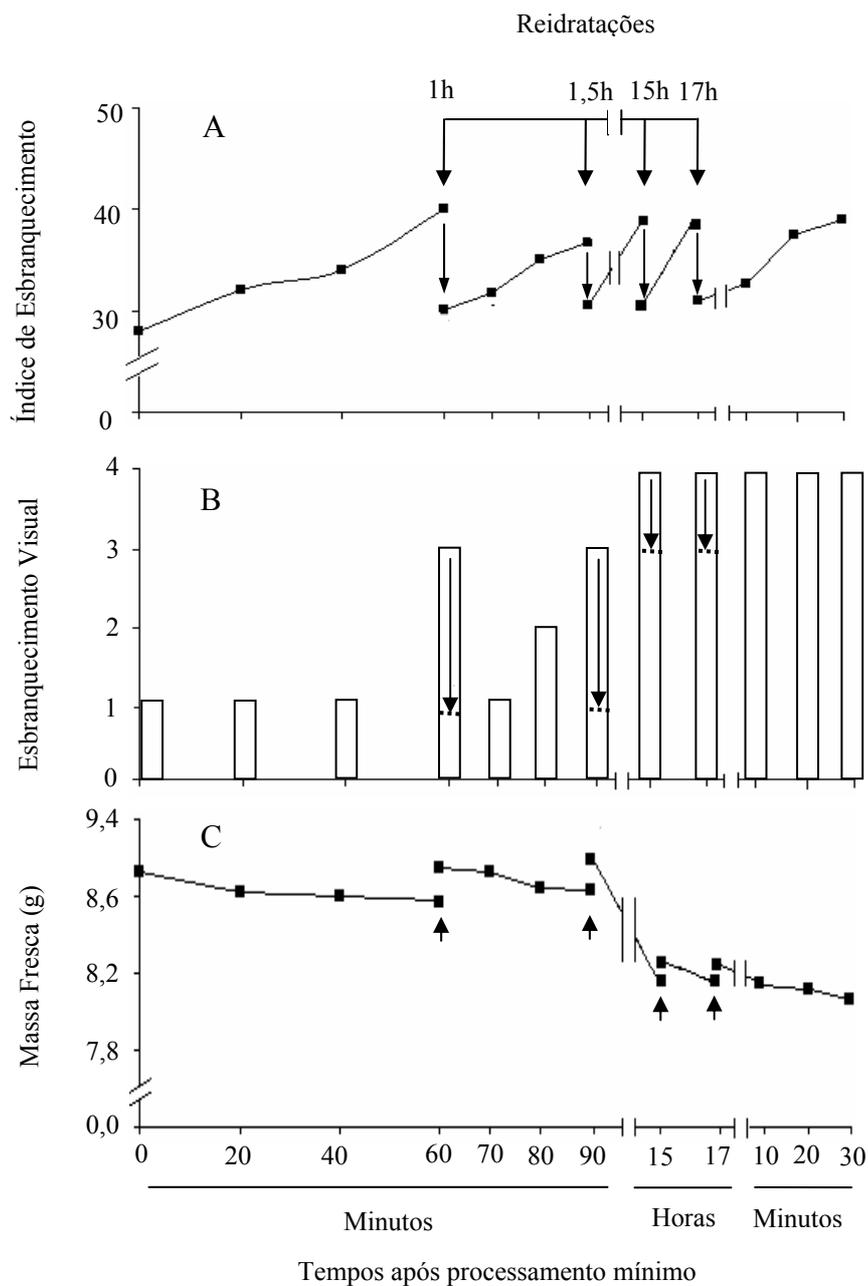
A desidratação também apresentou comportamento linear quando minicenouras foram conservadas com bandeja envolta em filme de PVC (Figura 2, gráfico interno). Verificou-se que o PVC possibilitou retardo de três dias para início dos sintomas de esbranquecimento. Isso ocorreu devido à maior velocidade de desidrataação caracterizada pelos altos valores de perda de massa (Figura 2, gráfico interno).

Os valores de perda de massa fresca das cenouras mantidas sem PVC alcançaram entre 10 e 12 %, ao final de 36 horas (Figura 1C), enquanto que para aquelas mantidas com embalagens, aos 21 dias perderam em torno de 3 % de massa fresca (Figura 2, gráfico interno). Esses resultados demonstram a importância da embalagem na formação de barreira ao vapor de água, minimizando a desidrataação, embora não contribua totalmente para a não manifestação do esbranquecimento.

### **3.2. Reidrataação de minicenoura**

Quando se reidratou a superfície de minicenoura em 1,0 e 1,5 horas pós-processamento, verificou-se queda imediata nos valores de IE e nas notas subjetivas, acompanhado por uma não percepção do esbranquecimento. Com 15 horas de processamento, minicenouras apresentaram-se intensamente esbranquecidas, com altos valores no índice de esbranquecimento e nas notas visuais (Figura 3A e B e Figura 4 C). Quando foram realizadas reidrataações as 15 e 17 horas, não se observou retorno na cor laranja original; alguns segundos após a hidrataação, o esbranquecimento voltou a ser perceptível (Figura 3B, setas), mesmo com a redução nos valores do IE (Figura 3A, setas).

A massa fresca das minicenouras apresentou queda gradativa (Figura 3C). Em todas as reidrataações, minicenouras apresentaram imediato incremento na massa fresca. Todavia a massa de água absorvida/adsorvida nas duas primeiras reidrataações, foi maior, entre 0,28 e 0,25 g, em relação às duas últimas, que foi de 0,20 a 0,22 g em média, respectivamente (Figura 3C). De modo geral, as duas primeiras reidrataações possibilitaram nítida reversão da cor laranja original da superfície, enquanto que nas duas últimas reidrataações, isso não aconteceu (Figura 3B). A não reversão total da



**Figura 3.** Índice de esbranquecimento (IE, A); esbranquecimento visual (B) e massa fresca (MF, C) em minicenouras mantidas até 17,5 horas após processamento mínimo, sem embalagem, a 5 °C e UR de  $90 \pm 5$  %. As setas ( $\downarrow/\uparrow$ ) indicam o curso do IE e da MF imediato às reidratações após 1; 1,5; 15 e 17 horas (1°; 2°; 3° e 4° reidratações, respectivamente).

cor após as duas últimas reidratações. Sugere-se que, em parte, ocorre a participação fisiológica, que muitos autores acreditam ser decorrente da deposição de lignina nas paredes das células adjacentes ao corte (Bolin e Huxoll, 1991; Howard e Griffin, 1993).



**Figura 4.** Minicenoura recém processada (A); após 1 hora (B) e 15 horas (C), mantidas sem embalagem, a 5 °C e UR de  $90 \pm 5$  %.

No geral, após as reidratações, aumentos imediatos na massa fresca foram observados (Figura 3C), acompanhados por reduções no IE e nas notas visuais (Figura 3A e B). Isso sugere uma relação inversa entre massa fresca e índice de esbranquecimento, embora em diferentes proporções, pois um pequeno ganho de água resultou em intensa mudança na cor, nas duas primeiras reidratações. Por outro lado, esse comportamento não foi observado nas duas últimas reidratações.

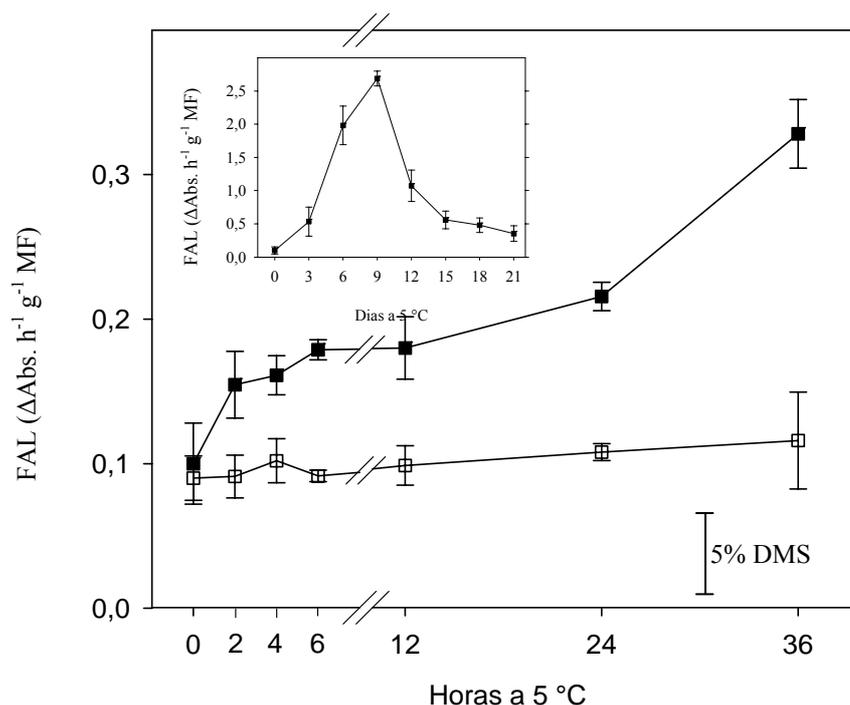
Com esses resultados, observou-se que o esbranquecimento ocorreu intensamente nas minicenouras após o processamento mínimo, nas duas primeiras horas e entre três e nove dias em minicenouras mantidas sem ou com PVC, respectivamente. Na prática, torna-se de extrema importância durante operações de processamento mínimo de cenoura, um rápido manuseio, a fim de evitar excessivos tempos de exposição ao ambiente, e assim, minimizar os sintomas de esbranquecimento na superfície. Além disso, a reidratação pode ser uma alternativa de manuseio durante o processamento mínimo, devido à possibilidade de ocorrer reversão para a cor laranja original, caso as mesmas já tenham manifestado esses sintomas por pouco tempo.

### **3.3. FAL (EC 4.3.1.5)**

Observou-se um intenso aumento na atividade da FAL nas primeiras 36 horas, para minicenoura em relação à cenoura inteira (Figura 5). Quando minicenouras foram conservadas por longos períodos, verificou-se uma curva em formato de parábola, com atividade máxima aos nove dias (Figura 5, gráfico interno). Esses resultados indicam alteração no metabolismo dos fenilpropanóides. Possivelmente, a operação de corte,

ocasionado pela abrasão, induz a produção de um elicitor, de natureza não conhecida, responsável pela comunicação intercelular, que promove aumento na atividade da FAL nos tecidos adjacentes ao corte como preconizado por Saltveit et al. (2000), Saltveit, et al. (2005) e Choi, et al. (2005).

A ativação da FAL é bem conhecida em tecido de cenoura minimamente processada e sua resposta se inicia nos primeiros dias de conservação (Howard e Griffin, 1993; Babic et al., 1993).



**Figura 5.** Atividade da FAL em cenoura inteira (□ = 2,5 mm superficiais do floema secundário, sem periderme); e minicenoura (■ = 2,5 mm superficiais do floema secundário) mantidas por até 36 horas, sem embalagem, a 5 °C e UR de 90 ± 5 %. O gráfico interno, representa a atividade da FAL em porção do floema secundário de minicenoura (2,5 mm superficial), mantidas em bandeja de PVC ao longo de 21 dias a 5 °C e UR de 90 ± 5 %. As barras verticais representam desvio padrão da média e a diferença mínima significativa (DMS) a 5%. Dados referentes a três repetições.

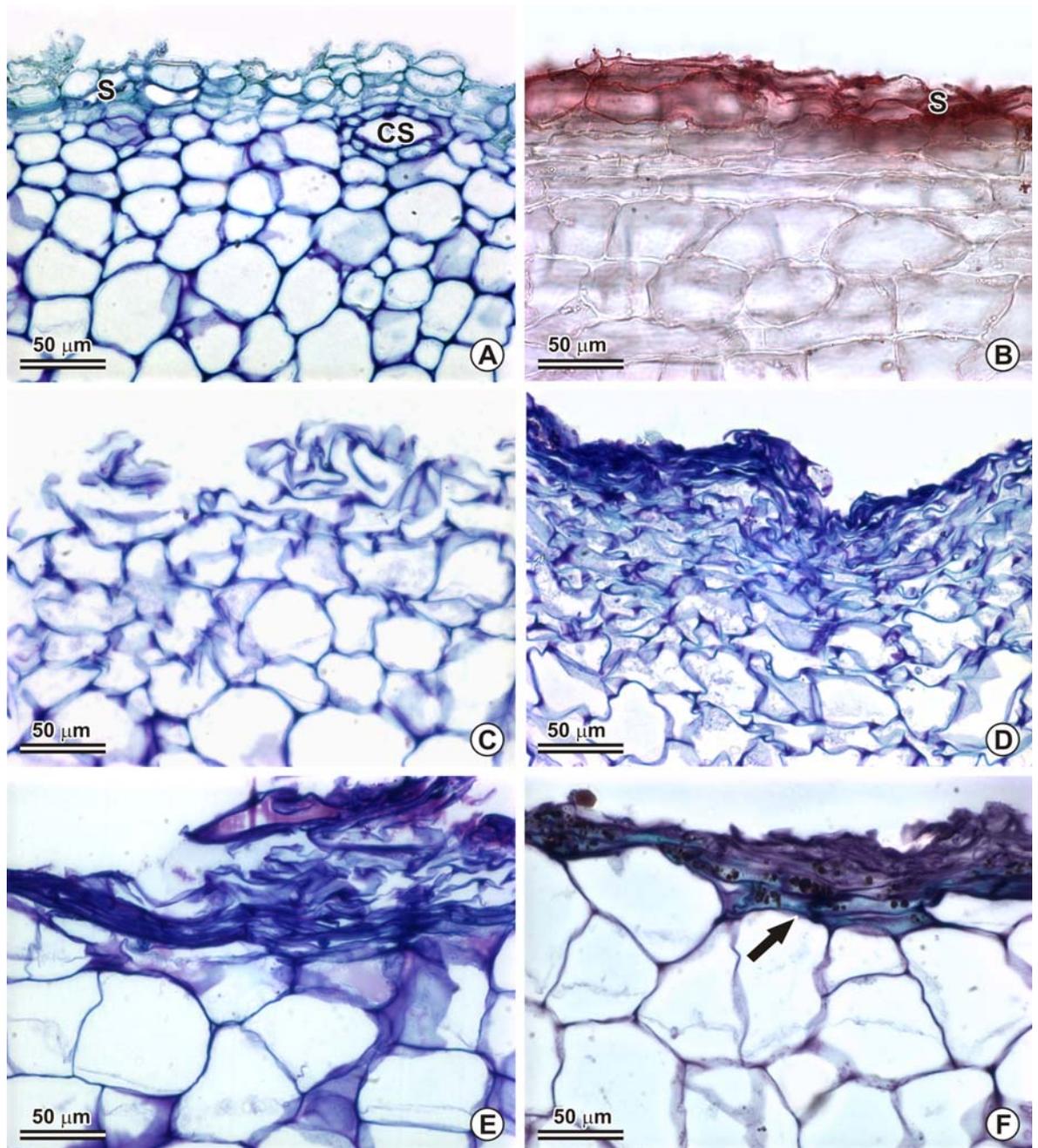
Esses resultados não indicam que o aumento na atividade da FAL resulta em acúmulo de lignina, embora essa enzima seja a primeira a participar na rota dos fenilpropanóides (Dixon e Paiva, 1995), além de ser também imprescindível para a síntese de lignina (Abreu et al., 2003; Monteiro et al., 2004). Contudo, essa rota biosintética produz uma variedade de ácidos fenólicos solúveis em cenoura (Klaiber et

al., 2005) que, por sua vez, são precursores para biossíntese de lignina (Brett e Waldron, 1996). Além disso, embora o início de esbranquecimento coincida com o período de aumento na atividade da FAL, parece não haver correlação em virtude de terem origens distintas: fisiológica e física.

### **3.4. Microscopia de luz**

Nas cenouras intactas (Figura 6A), a periderme é discreta, composta por felogênio e feloderme uniestratificados e súber com poucas camadas de células. Internamente à periderme, há uma região parenquimatosa onde ocorrem inúmeros canais secretores. A coloração esverdeada com azul de toluidina confirmou a presença de compostos fenólicos na secreção dos canais, muito comuns na família Apiaceae (Metcalf & Chalk, 1957; Esaú, 1940). A estrutura geral da periderme de raiz de cenoura está de acordo com o que já foi descrito por Esaú (1940) e O' Rear e Flore (1983) para a espécie.

No súber, as paredes celulares apresentam compostos fenólicos, que foram evidenciados pela coloração esverdeada (Figura 6A) característica do azul de toluidina (O'Brien & McCully, 1981), enquanto que a lignina foi identificada pela coloração avermelhada com floroglucina ácida. A suberina também está presente nas paredes celulares do súber, coradas intensamente de vermelho-alaranjado pelo sudan escarlate (Figura 6B). Isso confirma a presença de compostos fenólicos ligados ao material lipídico nas paredes peridérmicas, como visto por Riley e Kolattukudy (1975). A deposição de lignina e suberina nas paredes celulares do súber de raiz de cenoura, também é encontrada em outras espécies, como batata-doce (Walter e Schadel, 1983). A histoquímica pode auxiliar na identificação das mudanças estruturais e químicas como evidencia a lignificação em alfafa (Vallet et al., 1996).



**Figura 6.** Fotomicrografias de seções transversais da região superficial de cenouras intactas (A-B) e minicenouras (C-F) recém-processadas (C), mantidas por 36 horas sem filme de PVC (D), 10 e 30 dias com filme de PVC (E e F, respectivamente). As condições de conservação foram de 5 °C e  $90 \pm 5$  % UR. A, C-E, coradas com azul de toluidina. B, corada com sudan escarlata. F, corada com azul de toluidina e lugol. S, súber. CS, canal secretor de compostos fenólicos. Seta indica compostos fenólicos.

Imediatamente após a abrasão das minicenouras (Figura 6C), observa-se que as camadas celulares mais superficiais foram eliminadas, até aproximadamente 2mm de profundidade, compreendendo toda a periderme, a região parenquimatosa contendo os canais secretores e as camadas mais externas do floema secundário. As células mais externas do floema secundário passam a revestir as minicenouras, e ainda apresentam-se túrgidas logo após o processamento, embora as mais superficiais encontrem-se rompidas. O aspecto irregular da nova superfície, formada por células volumosas, de paredes pecto-celulósicas, geralmente rompidas, provavelmente contribui para a aspereza superficial das minicenouras. Essa aspereza não está relacionada ao esbranquiçamento, pois nessa etapa as minicenouras ainda conservam a coloração alaranjada intensa.

Após 36 horas (Figura 6D), a superfície das minicenouras apresenta muitas camadas de células colapsadas e achatadas tangencialmente. O colapso e o adensamento das células é maior em direção à superfície, provavelmente devido à maior desidratação, o que pode ser confirmado pela curva de perda de massa fresca (Figura 1C) nesse período. Portanto, pode-se considerar que há apenas modificações estruturais das células mais expostas pela abrasão e colapsadas pela desidratação, não ocorrendo acúmulo de compostos fenólicos ou impregnação de lignina e,ou suberina.

O esbranquecimento das minicenouras, já observado após 36 horas do processamento, pode estar associado à formação de uma barreira física para a visualização dos pigmentos nas células internas ainda hidratadas. Essa barreira física é constituída basicamente por material parietal e resíduos de protoplasma de células colapsadas e comprimidas tangencialmente. O maior espalhamento da luz na superfície irregular também pode estar relacionado à percepção do esbranquecimento. Quando as células superficiais são reidratadas, há redução do espalhamento da luz refletida, resultando em uma aparência translúcida e possibilitando a visualização da cor laranja original (Cisneros-Zervallos et al., 1995).

A compactação das camadas de células superficiais foi mais evidente nas minicenouras mantidas por 10 dias em bandejas envoltas com filme PVC. Enquanto a compactação e o colapso das células das camadas superficiais apresentavam um gradiente da periferia para o centro até 36 horas de armazenamento, aos 10 dias de armazenamento esse gradiente não é mais observado. A faixa de células colapsadas é mais estreita e compacta, diretamente em contato com células parenquimatosas túrgidas e mais volumosas que na superfície recém-processada (Figura 6E). Embora não tenha ocorrido depósito de lignina ou suberina, há discreto acúmulo de compostos fenólicos

na faixa de células colapsadas, e a barreira física estabelecida passa a restringir a perda de água dos tecidos mais internos, mantendo a hidratação das células subjacentes.

Aos 10 dias de armazenamento, os danos da desidratação na faixa de células colapsadas é mais extenso e provavelmente atinge as membranas, pois não ocorre mais a reversão da coloração alaranjada com a reidratação das minicenouras. Isso sugere que a reversibilidade da cor não ocorre de maneira indefinida, como num sistema puramente físico, e sim, em função da capacidade de recuperação do sistema biológico. O ressecamento extremo pode causar lesões nas membranas biológicas (Berjak e Pammanter, 2000) e, portanto, levar ao colapso brusco e irreversível do sistema osmótico das células e de sua capacidade de absorver água (Larcher, 1986). Taiz & Zeiger (2004) relatam que perda de 15 a 20% do volume celular é suficiente para perda da integridade de membranas biológicas.

Aos 30 dias de conservação (Figura 6 F) o acúmulo de compostos fenólicos na zona de células colapsadas e adensadas é mais evidente, o que é indicado pela coloração esverdeada do azul de toluidina e contra-coloração com lugol. Essa técnica de coloração também permitiu a identificação de pequenos grãos de amido, corados de marrom, associados aos depósitos de compostos fenólicos. Pela localização e pela reação negativa com floroglucina ácida, pode-se constatar que os compostos fenólicos acumulados não são estruturais, como a lignina. Depósitos de suberina também não ocorreram nesse período de armazenamento.

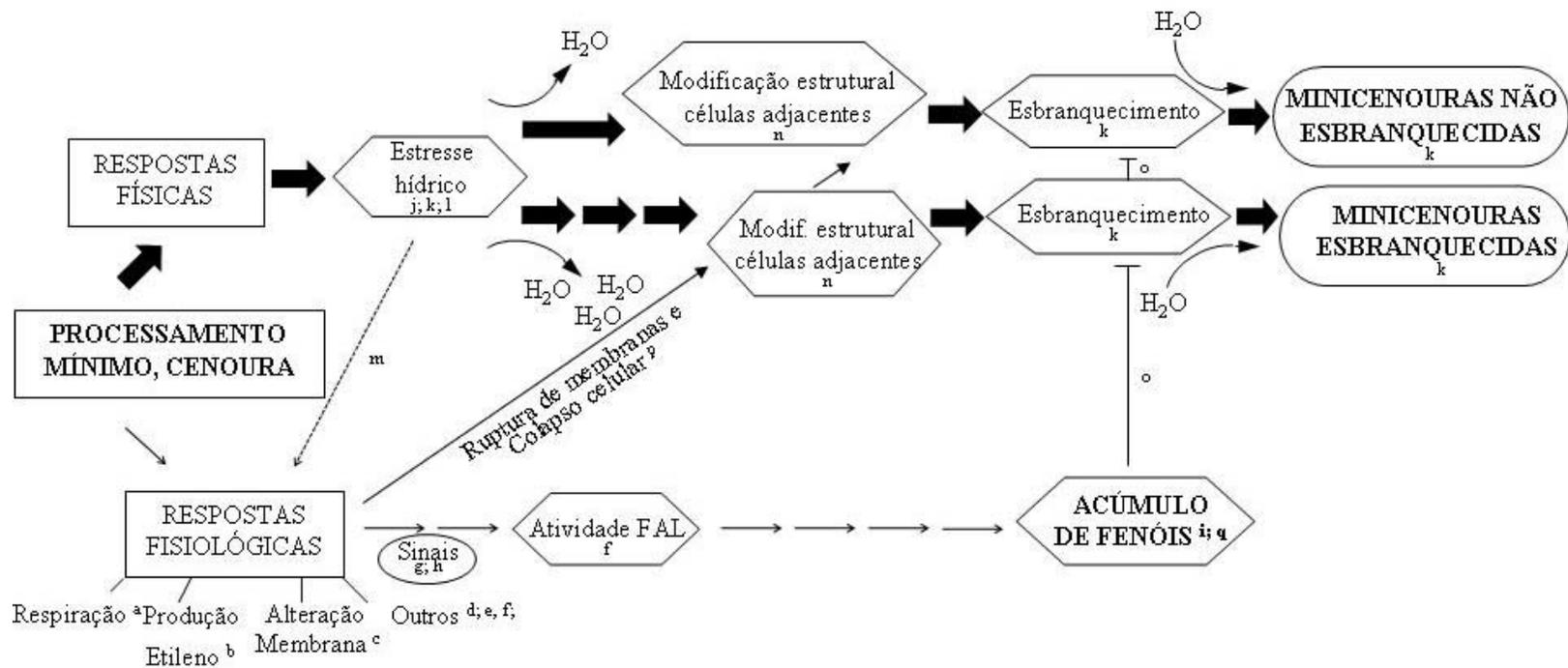
De modo geral, pode-se definir as alterações ocorridas durante a conservação na superfície de minicenouras como o colapso e a desidratação progressiva das camadas celulares mais superficiais, com síntese de compostos fenólicos e pequenos grãos de amido, sem depósitos de lignina e suberina, como ocorre na periderme de cenouras intactas. Portanto, as alterações ocorridas não caracterizam uma periderme de cicatrização, como em tubérculos de batata (Thomson et al., 1995 e Walter e Schadel, 1982), com instalação de felogênio e formação de súber.

Baseados em informações da literatura e dos resultados do presente estudo, é apresentado na figura 7, um diagrama proposto como hipótese de mecanismo das respostas físicas e fisiológicas que envolvem o esbranquecimento em minicenoura.

**Tabela 1.** Testes histoquímicos aplicados em cenouras intactas e minicenouras sob diferentes períodos de conservação, a 5 °C e 90 ± 5 % UR.

teste	coloração	cenoura intacta (súber)	minicenoura (camadas celulares mais externas)				
			período de conservação				
			sem filme de PVC*		com filme de PVC*, dias		
			recém processada	36 horas	10	25	30
Sudan escarlata para lipídios	vermelho alaranjado	+	-	-	-	-	-
Fluoroglucina para lignina	vermelha	+	-	-	-	-	-
Lugol para amido	marrom	-	-	-	-	+	++
Azul de toluidina para compostos fenólicos	verde	+	-	-	+	++	++

\* PVC = Cloreto de Polivinila



**Figura 7.** Mecanismo proposto referente à participação de algumas respostas físicas e fisiológicas que caracterizam o esbranquecimento. O diagrama foi baseado em estudos realizados, em sua grande parte com cenoura minimamente processada (letras sobre escritas) e de resultados obtidos nesse trabalho. As referências sobrescritas são: (a) Surjadinata e Cisneros-Zevallos, 2003; (b) Lafuente et al., 1996; (c) Picchioni, et al., 1996; (d) Seljasen et al., 2001; (e) Czepa e Hofmann, 2003; (f) Reyes et al., 2007; (g) Malone e Alarcón, 1995; (h) Campos-Vargas e Saltveit, 2002; (i) Klaiber et al., 2005; (j) Tatsumi et al., 1991; (k) Cisneros- Zevallos et al., 1995; (l) Barry-Ryan e O`Beirne, 1998; (m) Jiang e Zhang 2002; (n) Morris e Mann, 1955; (o) Avena-Bustillos et al., 1994; (p) Artschwager e Starret, 1931 e (q) Babic et al., 1993.

Os resultados obtidos sugerem que o esbranquecimento na superfície de minicenoura foi resultado de desidratação. Verificou-se também que o esbranquecimento é reversível quando a desidratação não é extrema e irreversível quando o tecido sofre intensa desidratação. A irreversibilidade na cor ocorre quando o estresse hídrico é mais duradouro, visualizando-se uma grande compactação das camadas de células colapsadas na superfície. Essa resposta pode resultar em células incapazes fisiologicamente de absorverem/adsorverem água, pelo comprometimento do sistema de membranas das células, que associado ao impedimento físico formado pelas paredes desidratadas, pode explicar a não reversão da cor laranja natural. Conclui-se que a reversão da cor em minicenouras não é um processo que ocorre indefinidamente. Tal processo é dependente diretamente da intensidade de perda de água e de fatores físicos, como mudanças estruturais da célula e, indiretamente, de um conjunto de fatores fisiológicos relacionados ao balanço hídrico celular, pois as membranas biológicas têm sua funcionalidade comprometida com a desidratação intensa. Portanto, o esbranquecimento da minicenoura constitui um processo físico, causado pela desidratação associado ao colapso de células superficiais, não estando associado à lignificação ou à suberificação.

#### **4. CONCLUSÕES**

A desidratação e as alterações estruturais das camadas de células mais superficiais são os principais causadores do esbranquecimento em minicenouras, que não está relacionado ao acúmulo de lignina ou suberina. Além disso, sucessivas reidratações podem ou não reverter o esbranquecimento na superfície de minicenouras, dependendo do grau de desidratação sofrido e, conseqüentemente, da perda de matéria fresca.

O aumento na atividade da FAL na região superficial não está relacionada à síntese de lignina, mas ao acúmulo de compostos fenólicos não-estruturais.

## 5. REFERÊNCIAS

- Abreu, H.; Maêda, J.; Pereira, R.; Monteiro, M. B.; Abreu, F. Carmo, J. 2003. Proposta de modificação da biosíntese da lignina como estratégia para correção de defeitos em madeiras. *Silva Lusitana*, 11 (2): 217-225.
- Artschwager, E. and R. G. Starret, 1931. Suberization and wound periderm formation in sweet potatoes and gladiolus as affected by temperature and relative humidity. *J. Agr. Res.* 43: 353-354.
- Avena-Bustillos, R. J., Cisneros-Zevallos, L. A., Krochta, J. M., Saltveit, M. E. 1994. Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. *Post. Biol. and Technol.*, 4: 319-329.
- Babic, I.; Amiot, M. J.; Nguyen-the, C.; Aubert, S., 1993. Changes in phenolics content in fresh ready-to-use shredded carrots during storage. *J. Food Sci.*, 58: 351-356.
- Barry-Ryan, C.; e O'Beirne, D. 1998. Quality and shelf-life of fresch cut carrot slices as affected by slicing method. *Eng. Proces.*63 (5): 851-856.
- Berjak, P.; Pammenter, N. 2000. What ultrastructure has told us about recalcitrant seeds. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, Brasília, v. 12, p. 22-55.
- Bolin, H.R.; Huxoll, C.C. 1991. Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *J. of Food Sci.*, 56: 416-418.
- Bolin , H. R. 1992. Retardation of surface lignification on fresh peeled carrots. *J. Food Proc.*, 16: 99-103.
- Brett, C. and Waldron, K. 1996. Physiology and biochemistry of plant cell walls. Second edition. Printed in Great Britain at the University Press, Cambridge. 255p.

Brundrett, M. C. Kendrick, B.: Peterson, C. A. 1991. Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B ou Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic & Histochemistry*. 66: 111-116.

Campos-Vargas; R.; Saltveit, M. E. 2002. Involvement of putative chemical wound signals in the induction of phenolic metaboism in wounded lettuce. *Physiol. Plant*. 114: 73-84.

Czepa, A. and Hofmann, T. 2003. Structural and sensory characterization of compounds contributing to the bitter off-taste of carrots (*Daucus carota* L.) and carrot puree. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 3865-3873.

Choi, Y. J.; Tomás-Barberán, F. A.; Saltveit, M. E. 2005. Wound-induced phenolic accumulation and browning in lettuce (*Lactuca sativa* L.) leaf tissue is reduced by exposure to n-alcohols. *Post. Biol. Technol.*, 37: 47-55.

Cisneros- Zevallos, L; Saltveit, M. E.; Krochta, J. M. 1995. Mechanism of surface white discoloration of peeled (minimally processed) carrots during storage. *J. of Food Sci.*, 60: 320-323.

Dixon, R. A. and Paiva, N. 1995. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. *The Plant Cell*, 7, 1085-1097.

Esaú, K. 1940. Developmental anatomy of the fleshy storage organ of *Daucus carota*. *Hilgardia*, 13 (5): 175-226.

Howard, L. R. and Griffin, L. E. 1993. Lignin formation and surface discoloration of minimally processed carrot sticks. *J. Food Sci.* 58 (5): 1065-1068.

Howard, L. R., Griffin, L. E., Lee, Y. 1994. Steam treatment of minimally processed carrots sticks to control surface discoloration. *J. Food Science.*, 59 (2): 356-8.

Jiang, M. & Zhang, J. 2002. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activies of antioxidant enzymes in maize leaves. *J. Exp. Bot.* 53 (379): 2401-2410.

Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill, 423p.

Ke, D.; Saltveit, M. E. 1986. Effects of calcium and auxin on russet spotting and phenylalanine ammonia-lyase activity in iceberg lettuce. *HortSci.*, 21: 1169-1171.

- Klaiber, R. G.; Baur, S.; Koblo, A.; Carle, R., 2005. Influence of washing treatment and storage atmosphere on phenylalanine ammonialyase activity and phenolic acid content of minimally processed carrots sticks. *J. Agric. Food Chemistry.*, 53: 1065–1072.
- Lafuente, M. T. López-Galvéz, G.; Cantwell, M.; Yang, S. F. 1996. Factors influencing ethylene-induced isocoumarin formation and increasing respiration in carrot. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 121 (3): 537-542.
- Lana, M. M.; Veira, J. V. V.; Silva, J. B. C.; Lima, D. B. 2001. Cenourete e catetinho: mini cenouras brasileiras. *Hort. Bras.* 19 (3): 376-379.
- Larcher, W. 1986. *Ecofisiologia Vegetal*. Tradutores: Antônio de P. Danesi e Hildegard T. Buckup. São Paulo, Editora EPU - Editora Pedagógica e Universitária LTDA. 319 p.
- Laschimke, R. 1989. Investigation of the wetting behaviour of natural lignin-a contribution to the cohesion theory of water transport in plants. *Thermochimica Acta.*, 151: 35-56.
- Malone, M.; & Alarcón, J. J. 1995. Only xylem-borne factors can account for systemic wound signaling in the tomato plant. *Planta*, 196: 740-746.
- Metcalf, C.R., Chalk, L. 1957. *Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford: Clarendon Press. 2v.
- Monteiro, M. B. O.; Pereira, R. P. W.; Abreu, H. S. 2004. Bioquímica da lignificação de células xilêmicas. *Floresta e Ambiente*, 11 (2): 48-57.
- Moretti, C. L.; Mattos, L. M. 2007. Processamento mínimo de minicenoura. In: *Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças*. Brasília: EMBRAPA Hortaliças e SEBRAE, 531p.
- Morris, L. L. e Mann, L. L. 1955. Wound healing, keeping quality and compositional changes during curing and storage of sweet potatoes. *Hilgardia* v. 24, p. 143-183.
- O'Brien TP, McCully ME. 1981. *The study of plant structure: principles and selected methods*. Melbourne: Termarcaphy Pty.
- O'Brein, T. P.; Feder, N.; McCully, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, 59: 368-373.

- O'Rear, L. and Flore, J. 1983. Quantitative and qualitative characterization of carrot root periderm during development. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 108: 923-928.
- Picchioni, G. A; Watada, A. E.; Whitaker, B. D.; Reyes, A. 1996. Calcium delays senescence-related membrane lipid changes and increases net synthesis of membrane lipid components in shredded carrots. *Posth. Biol. and Technol.* 9: 235-245.
- Reyes, L. F.; Villareal, E.; Cisneros-Zevallos, L. 2007. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetables tissue. *Food Chemistry.*, 101: 1254-1262.
- Rico, D.; Martín-Diana, A. B.; Frias, J. M.; Barat, J. M.; Henehan, G.T.M.; Barry-Ryan, C. 2007. Improvement in texture using calcium lactate and heat-shock treatments for stored ready-to-eat carrots. *Journal of Food Engineering.* 79: 1196 –1206.
- Riley, R. G. e Kolattukudy, P. E., 1975. Evidence for covalently attached p-coumaric acid and ferrulic acid in cutins and suberins. *Plant. Physiol.*, 56: 650-654.
- Sass, J.E. 1958. *Botanical microtechnique*. Ames, Iowa: The Iowa State University Press.
- Saltveit, M. E. 2000. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biol. Technol.*, 21: 61-69.
- Saltveit, M. E.; Choi, Y. J.; Tomás-Barberán, F. A. 2005. Involvement of components of the phospholipid-signaling pathway in wound-induced phenylpropanoid metabolism in lettuce (*Lactuca sativa*) leaf tissue. *Physiol. Plant.*, 125: 345-355.
- Seljasen, R.; Bengtsson, G. B.; Hoftun, H. & Vogt, G. 2001. Sensory and chemical changes in five varieties of carrot (*Daucus carota* L.) in response to mechanical stress at harvest and post-harvest. *J. of the Sci. of Food and Agriculture*, 81: 436-447.
- Simões, A. N.; Ventrella, M. C.; Morais, F.F.F.; Diniz, L. T.; Valente, V. M. M.; Puschmann, R. 2007. Avaliação da presença de suberina em minicenoura, durante a conservação refrigerada. V Congresso Iberoamericano de Tecnologia Postcosecha y Agroexportaciones. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, Murcia, Espanha.
- Soliday, C. L., Kolattukudy, P. E. and Davis, R. W. 1979. Chemical and ultrastructural evidence that waxes associated with the suberin polymer constitute the mayor diffusion barrier to water vapor potato tuber (*Sollanum tuberosum* L.) *Planta* 166: 207-214.

Surjadinata, B. B.; Cisneros-Zevallos, L. 2003. Modeling wound-induced respiration of fresh-cut carrots (*Daucus carota* L.) J. Food Sci. 68:9; 2735-2740.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2004. Plant Physiology. 3 ed.: Artmed 719p.

Tatsumi, Y.; Watada, A. E.; Wergin, W. P. 1991. Scanning electron microscopy of carrot stick surface to determined cause of white translucent appearance. J. Food Sci., 56: 1357-1359.

Tatsumi, Y.; Watada, A. E.; Wergin, W. P. 1993. Sodium chloride treatment or waterjet slicing effects on white tissue development of carrot sticks. J. Food Sci., 58: 1390-1392.

Thomson, N. Evert, R. F. and Kelman, A. 1995. Wound healing in whole potato tubers: a cytochemical, fluorescence, and ultrastructural analysis of cut and bruise wounds. Can. J. Bot. 73: 1436-1450.

Vallet, C.; Chabbert, B.; Czaninski, Y. and B. Monties. 1996. Histochemistry of lignin deposition during sclerenchyma differentiation in Alfalfa Stems Annals Bot., 78: 625-632.

Walter Jr., W. M.; Schadel, W. E. 1982. A rapid method for evaluating curing progress in sweet potatoes. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 107 (6): 1129-1133.

Walter Jr., W. M.; Schadel, W. E., 1983. Structure and composition of normal skin (periderm) and wound tissue from cure sweet potatoes. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 108 (6): 909-914.

## **CAPÍTULO 2**

### **ATMOSFERA CONTROLADA INFLUENCIA A ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E OS COMPOSTOS FITOQUÍMICOS, MAS NÃO GARANTE QUALIDADE EM MINICENOURA DURANTE SUA CONSERVAÇÃO REFRIGERADA**

#### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar o efeito de distintas atmosferas de conservação de minicenoura na respiração, na qualidade sensorial e nos teores de ácido ascórbico, dehidroascórbico, carotenóides totais e compostos fenólicos. O aumento na respiração das minicenouras nos primeiros dias de conservação foi minimizado ou suprimido em atmosfera com baixos níveis de oxigênio (O<sub>2</sub>). O perfil de produção de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) pelas minicenouras durante toda conservação ocorreu na seguinte ordem: atmosfera ambiente > 10 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub> > 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> > 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub>, balanço N<sub>2</sub>. A qualidade total para a aceitação comercial de minicenoura foi comprometida pelo sabor, devido à percepção do amargor; pela aparência, evolução do esbranquecimento na superfície, acontecendo, principalmente, em minicenoura mantidas em atmosfera ambiente. Observou-se que minicenouras mantidas sob atmosferas de 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub> e 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>, resultaram em poucas alterações no sabor, no conteúdo de ácido ascórbico e dehidroascórbico, de carotenóides totais e de compostos fenólicos. Os carotenóides identificados e quantificados foram luteína,  $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos, este último, em maior proporção. Foi observado acúmulo de compostos fenólicos nos tecidos superficiais do floema secundário de minicenoura, durante sua conservação, para todas as atmosferas avaliadas, com exceção da condição de 2 % de O<sub>2</sub> + 15 % de CO<sub>2</sub>. O composto predominante foi identificado como o isômero ácido 5-*O-trans*-cafeoil

quínico. Além disso, em menores proporções foram encontrados os compostos: ácido 5-*O-cis*-cafeoil quínico; ácido *O-p*-cumaril quínico e ácido 3,5-di-*O*-cafeoil quínico. Outros dois fenóis não foram identificados. Observaram-se acúmulos diferenciais de ácidos fenólicos, em função da atmosfera e dos dias de conservação. As minicenouras mantidas em atmosfera ambiente, na maioria das vezes, apresentaram maior acúmulo de alguns ácidos fenólicos, em relação às demais atmosferas. A atmosfera de 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> foi a melhor atmosfera de conservação para minicenoura, ao longo de 12 dias de conservação, por proporcionar menor risco à respiração anaeróbica em relação à atmosfera de 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub>, caso ocorra flutuação na temperatura durante a logística de distribuição ou mesmo nas gôndolas dos supermercados. A atmosfera de 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> proporcionou pouca alteração dos fitoquímicos estudados. No entanto, essa atmosfera não foi suficiente para manter a qualidade total de minicenoura, em virtude do esbranquecimento de sua superfície. Logo, essa condição deve estar associada à tecnologia que reduzam a desidratação das minicenouras conservadas sob refrigeração.

## 1. INTRODUÇÃO

Diversos estudos revelam boa relação entre a dieta alimentar humana à base de produtos de vegetais, com redução de várias doenças crônicas, como aterosclerose e câncer (Gundgaard et al., 2003; Hashimoto et al., 2002; Kris-Etherton et al., 2002). Esses efeitos benéficos são atribuídos a compostos que possuem atividade antioxidante, como vitamina C e E, carotenóides e compostos fenólicos, especialmente os flavonóides (Podsdek, 2007). O uso adequado de tecnologias pós-colheita visa manter níveis desses constituintes elevados e estáveis por um maior tempo (Rico et al., 2007).

Ácido ascórbico está presente em tecidos de plantas em todas as fases de crescimento e desenvolvimento (Chinoy, 1984; Loewus e Loewus, 1987). Seu conteúdo é muito baixo em cenoura, em relação a outras hortaliças como couve repolho, dentre outros (Alsavar et al., 2001; Carnelossi et al., 2005 e Silva, 2000). Quando cenoura é minimamente processada, seu teor reduz significativamente em relação à intacta (Reyes et al., 2007). Talvez por isso, é pouco frequente a quantificação de vitamina C nesse tipo de produto.

Os carotenóides estão distribuídos nos tecidos vegetais, mas são mais abundantes em tecidos de raízes pigmentadas, como em cenoura, apresentando o tecido floemático maiores níveis, seguido da periderme e do tecido xilemático (Howard e Dewi, 1996). Além de atividade de provitamina A, os carotenóides atuam como um potente antioxidante '*in vivo*'. As ligações duplas conjugadas em sua estrutura, são capazes de estabilizar elétrons adicionais dos radicais livres ou outros compostos reativos (Mortensen et al., 2001), estando associados à prevenção de doenças (Bendich e Olson, 1989). A atmosfera de conservação pode influenciar o conteúdo de carotenóides totais e/ou individuais em cenouras inteiras ou cortadas, em função da presença de diferentes níveis de oxigênio (Li e Barth, 1998). No caso de minicenoura, a retirada da periderme possibilita a exposição do floema secundário, onde os

carotenóides estão mais concentrados, tornando-os mais susceptíveis à degradação (Howard e Dewi, 1996).

Os compostos fenólicos são excelentes agentes redutores, capazes de estabilizarem elétrons não pareados dos radicais adicionais ou espécies prejudiciais, conhecidos como espécies reativas de oxigênio (Taiz & Zeiger, 2004). Os níveis de compostos fenólicos em cenoura minimamente processadas aumentam significativamente durante sua conservação refrigerada (Klaiber et al., 2005). Dos compostos fenólicos, aproximadamente 95 % são denominados trans e cis isômeros de ácidos clorogênicos, apresentando também ácido p-hidroxi benzóico e vários derivados de ácidos cinâmicos (Sakar e Phan, 1974; Babic et al., 1993).

O efeito de distintas atmosferas nos componentes fitoquímicos e na qualidade visual de hortaliças folhosas (López-Galvéz et al., 1996; Fonseca et al., 2003 e Martínez-Sánchez et al., 2006), em cenoura minimamente processada na forma ralada (Babic et al., 1993; Alasavar et al., 2005) e na forma de pedaços e fatias (Izumi et al., 1996) foram estudados. Sabe-se, que para hortaliças folhosas como alface e rúcula, o uso de atmosfera com baixos níveis de O<sub>2</sub> e altos de CO<sub>2</sub> mantém os níveis de vitamina C, flavonóides e qualidade visual e aumenta a vida útil (López-Gálvez et al., 1996 and Matinéz-Sánchez et al., 2006). Para cenoura minimamente processada, atmosferas de 2-10 % de O<sub>2</sub> e 10-40 % de CO<sub>2</sub>, balanço N<sub>2</sub>, minimizam perdas de açúcares (Carlin et al., 1990). Além disso, baixos níveis de O<sub>2</sub> diminuem a síntese de compostos fenólicos (Babic et al., 1993 e Alasavar et al., 2005).

Os trabalhos realizados com cenoura minimamente processada por Carlin et al. (1990) e, posteriormente por Babic et al. (1993), determinaram níveis ideais de atmosfera composta por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, mas não avaliaram os constituintes fitoquímicos, tais como carotenóides e vitamina C, considerados como antioxidantes. Além disso, nas atmosferas estudadas por Izumi et al. (1996), 5 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> e por Alasavar et al. (2005), de 5 ou 95 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub>, não foram quantificados ácido ascórbico, dehidroascórbico e compostos fenólicos individuais.

Do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da conservação de minicenoura em diferentes níveis de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, na respiração e nos componentes fitoquímicos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Matéria-prima e atmosferas**

Minicenouras, cv. Tino, foram obtidas prontas da indústria Florette, Barcelona, Espanha. Aproximadamente 200g de minicenoura foram selecionadas e postas em frascos de 750 mL em sistema de fluxo contínuo de ar humidificado nas seguintes concentrações de O<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub>: 2 % de O<sub>2</sub> + 15 de CO<sub>2</sub>; 5 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub>; 10 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> e condição de ambiente (~21 % de O<sub>2</sub> + ~0,04 % de CO<sub>2</sub>), em todos os casos utilizaram-se o N<sub>2</sub> como balanço. Todos os frascos com minicenouras foram acondicionados a 4 °C e mantidos por 12 dias.

### **2.2. Produção de CO<sub>2</sub>**

A taxa respiratória foi estimada após acúmulo dentro de frascos fechados (Kader, 1989), O acúmulo de CO<sub>2</sub> dentro dos frascos foi medido após um período de 4 horas de acúmulo, dentro dos frascos hermeticamente fechados para as atmosferas com 2 % de O<sub>2</sub> + 15 de CO<sub>2</sub>; 5 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub>; 10 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub>; e 0,5 hora de acúmulo de CO<sub>2</sub>, para os frascos que estavam em atmosfera ambiente. Após os referidos tempos de acúmulo, foi coletado 1 mL de ar dentro dos frascos com ajuda de uma seringa, e injetado em um analisador de gases (Horiba Via 510, Irving, USA).

### **2.3. Extração e análises de ácido ascórbico (AA) e ácido dehidroascórbico (ADHA)**

O conteúdo de ácido ascórbico (AA) e ácido dehidroascórbico (ADHA) foi determinado como descrito por Zapata e Dufour (1992), com algumas modificações (Gil et al., 1999).

Dez gramas de minicenouras frescas foram homogeneizados, por 2 minutos, com o auxílio de um Ultra Turrax (Ika, Staufen, Alemanha) com 10 mL de meio de extração (Metanol[MeOH]/H<sub>2</sub>O (95/5, v/v), 0,1 M de ácido cítrico, 0,05 % p/v Etilendiaminotetraacético [EDTA] e Fluoreto de Sódio[NaF]). O homogenato foi

filtrado em gazes, centrifugado a 10.500 g por 15 minutos à temperatura de 2 a 5 °C, transferido para uma coluna Sep-Pak (Waters, Milford, MA) e por fim, filtrado em filtros de seringa a 0,45 µm.

Para reação, 250 µL de 1,2-cloro fenilenodiamina (OPDA) (Aldrich), solução (35 mg 100 mL<sup>-1</sup>) foi adicionado a 750 µL do extrato para a derivação de ADA a fluorofóro 3-(1,2-dihidroxietil) turan [3,4-b] quinoxalina-1-ona (DFQ). Após 37 minutos no escuro, AA e ADA foram analisados utilizando um cromatografo líquido de alta eficiência (CLAE) (Merck Hitachi, Tokyo, Japão), equipado com bomba L-6000 e acoplado a um detector D-2500 variável em comprimento de onda no ultravioleta-visível.

Vinte microlitros de amostra foram injetados na válvula de injeção. A pré-coluna (coluna de guarda) ODS C18 (Tecnokroma, Barcelona, Espanha). A separação foi realizada com auxílio de uma coluna Kromasil 100 C18 (250 mm x 4 mm; 5 µm tamanho da partícula; Tecnokroma, Barcelona, Espanha) sob fase-reversa. A fase móvel, MeOH/H<sub>2</sub>O (5/95, v/v), continha 5 mM de cetramida e 50 mM de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> a pH 4,5. O fluxo conduzido foi de 0,9 mL min<sup>-1</sup>. O detector foi ajustado inicialmente no comprimento de onda de 348 nm e após eluição com do DFQ, foi alterado manualmente para 261 nm para detecção do AA.

#### **2.4. Extração e análises dos carotenóides**

O procedimento usado para extração dos carotenóides foi semelhante ao descrito por Mínguez-Mosquera and Garrido-Fernández (1989) com algumas modificações (Marín et al., 2004).

Os caroteóides foram extraídos de 5 g de massa fresca de minicenoura, foram homogeneizados por 2 minutos em Ultra Turrax (Ika, Staufen, Alemanha) contendo 10 mL de solução de extração [5 mL padrão interno, β-apo-8'-carotenil decanoato (solução de 100 mg 250 mL<sup>-1</sup>) e 5 mL MeOH]. O extrato foi lavado quatro vezes com 50 mL de acetona até perder toda a pigmentação (Mínguez-Mosquera e Hornero-Méndez, 1993). O extrato foi combinado em funil de decantação, misturado com 10 mL de éter etílico para separação de fases, com a transferência dos pigmentos ao éter. Em seguida, adicionou Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %) anidro, para remover toda a água. A fase aquosa foi removida e a fase orgânica foi filtrada em lã de vidro e com cristais de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O extrato obtido foi evaporado até secar completamente em um evaporador rotativo à temperatura de 35 °C. Os pigmentos foram coletados em 7 mL de acetona.

Na análise, utilizou-se um cromatografo líquido de alta eficiência (CLAE, Merck Hitachi, Tokyo, Japão) equipado com bomba (modelo L-6200) e detector espectrofotométrico por arranjo em fotodiodo, no espectro ultravioleta/visível (modelo SPD- M6A). As amostras foram injetadas automaticamente (modelo Gilson 234). A separação foi conduzida com auxílio de uma coluna C<sub>18</sub> empacotada com Spherisob ODS 2, 250 x 4 mm id. (Hewlett-Packard) sob fase reversa. As condições de trabalho foram as seguintes: fluxo de 1,5 mL min.<sup>-1</sup>, volume injetado de amostra 20 µL. A fase móvel foi H<sub>2</sub>O, no canal A e acetona, no canal C. O gradiente de trabalho foi: 75 %C (15 min.); 75 %C a 95 %C (5 min.); 95 %C (7 min.); 95 % a 100 %C (6 min.); 100 %C a 75 %C (5 min.); 75 %C (7 min.). O detector foi ajustado no modelo de varredura, 210 nm a 550 nm, durante a análise, o comprimento de onda de máxima absorção para a detecção e quantificação do padrão foi de 450 nm, 426 nm para β-apo-8'-carotenil decanoato, 445 nm para luteína, 440 nm para α-caroteno e 453 nm para β-caroteno.

A quantificação dos carotenóides foi realizado com auxílio do padrão externo, por comparação do tempo de retenção e dos espectros de absorção, dos respectivos padrões. Foi injetado adicionalmente, β-apo-8'-carotenil decanoato para determinação da eficiência de extração.

## **2.5. Extração, identificação e quantificação dos compostos fenólicos**

Para extração, utilizou-se amostras correspondendo a região superficial do floema secundário de minicenoura (2,5 mm). Esse tecido foi previamente liofilizadas e mantidos em dessecadores até os procedimentos de extração. A extração, identificação e quantificação foram realizadas de acordo com Marín et al. (2004), com algumas modificações.

Os compostos fenólicos foram extraídos de 1 g do tecido liofilizado. Foi homogeneizado, por 2 minutos, utilizando um Ultra Turrax (Ika, Staufen, Alemanha) em 20 mL da solução de extração (MeOH/H<sub>2</sub>O/ácido acético; 70/29.5/0.5 v/v/v) a 4 °C, e centrifugado a 4.000 g por 10 minutos (Centrífuga Centromix, Selecta, Barcelona, Espanha). O sobrenadante foi concentrado sob pressão negativa a 35 °C, para remoção do MeOH. A fração aquosa foi dissolvida em 10 mL de H<sub>2</sub>O e transferida a coluna Sep-Pak C18 (Waters Corp, Milford, MA), a qual foi previamente ativada com MeOH seguido de H<sub>2</sub>O e ar. O extrato contendo os compostos fenólicos foram adsorvidos dentro da coluna, do qual os açúcares, ácidos e outros compostos solúveis em água foram eluídos com 10 mL de H<sub>2</sub>O. O extrato foi recuperado com 1,5 mL de MeOH e filtrado a 0,45 µm (Millex HV13, Millipore, Bedford, MA).

Vinte microlitros de extrato foram analisados utilizando sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Merck Hitachi, Tokyo, Japão) equipado com bomba L-7100 e detector por arranjo de diodos no ultravioleta/visível (UV/VIS) (modelo L-7455). Amostras dentro de eppendorfs foram postas na cabina de injeção automática (modelo L-7200) e a separação foi conduzida com auxílio de uma coluna C<sub>18</sub> Mediterranea sea (250 mm × 4.6 mm i.d., 5 µm, Teknokroma, Barcelona, Espanha), utilizando como fase móvel H<sub>2</sub>O/ácido fórmico (95:5, v:v), no canal A e MeOH: ácido fórmico (95:5, v:v), no canal B. A eluição foi conduzida pelo seguinte gradiente: 12 % B, a 18 min 27 % B, a 36 min 45 % B, a 40 min 60 % B, a 43 min 60 % B, a 48 min 90 %, a 53 min 12 % B and mantidos isocraticamente até 57 min. O fluxo utilizado foi de 1 mL min<sup>-1</sup> e os cromatogramas foram gravados a 320 nm referente ao comprimento de onda de máxima absorção pelos ácidos hidroxinâmicos.

Um cromatógrafo líquido de alta precisão, acoplado a um espectômetro de massas (HPLC-MS) foi utilizado pra identificação de compostos. O sistema foi equipado com detector espectrofotométrico por arranjo por diodo (DAD) e detector de massas em série; bomba binária (G1312A); injetor automático de amostras (G1313A); degaseificador (G1322A); um detector de arranjo por fotodiodo (G1315B) e um espectrômetro de massas utilizando sistema armadilha de íons (MS-MS ou íon-trap MS), com ionização por eletronebulização (ionização por eletrospray ou ESI) e operado com ionização no modo negativo e positivo pelo software (v. 4.0.25) da Agilent Technologies (Waldbronn, Alemanha). O capilar aquecido e a voltagem permaneceram a 350 °C e 4 KV respectivamente. A varredura de massas e seus espectros identificados foram medidos de 50 a ~ 800 massa/carga. As fragmentações por colisão induzida, foram realizadas com armadilha de íon usando o gás hélio na colisão, e a energia de colisão foi mantida em 50 %.

A identificação foi conduzida por medidas do espectro no UV; do tempo de retenção e das massas espectrométricas. Os derivados de ácidos hidroxinâmicos foram quantificados por padrão externo com ácido clorogênico a 320 nm. Os fenólicos totais foram calculados como adição dos fenóis individuais.

## **2.6. Avaliação sensorial**

A avaliação sensorial foi realizada por um painel treinado. As minicenouras tiveram sua qualidade total atribuída a uma escala hedônica de notas, em que os extremos e o centro foram os intervalos apresentados. Os atributos de aroma e firmeza,

sabor e esbranquecimento foram avaliados em uma escala de 5 pontos. Os detalhes das notas estão apresentados no quadro 1.

As amostras foram codificadas com números de três dígitos aleatórios, para mascarar a identidade dos tratamentos. Todas as avaliações foram realizadas em temperatura ambiente, em laboratório equipado com cabinas com luzes de cor branca e vermelha. Aroma, firmeza e o sabor foram avaliados sob luz vermelha. Subsequentemente, o esbranquecimento e a qualidade total, foram avaliados sob luz branca.

**Quadro 1.** Escala hedônica de notas utilizadas para avaliar o aroma, a firmeza, o sabor, o esbranquecimento e a qualidade total em minicenouras.

<b>Notas</b>	<b>Aroma e firmeza</b>	<b>Sabor</b>
1	não característico	Percepção de amargo
2	moderado, limite inferior de aceitação	não doce, limite de aceitação
3	totalmente característico do produto	Doce
<b>Notas</b>	<b>Esbranquecimento superficial</b>	
1	superfície não esbranquecida, superfície cor laranja original	
2	1 a 15 % da área superficial esbranquecida, iniciando nas extremidades, mas não comprometendo a qualidade	
2,5	16 a 50 %, esbranquecimento moderado	
3	51 a 70 %, esbranquecimento avançado, limite de aceitação	
4	71 a 80 %, esbranquecimento severo	
5	81 a 100 %, extremamente esbranquecido	
<b>Notas</b>	<b>Qualidade total</b>	
1	extremamente desagradável, não caracterizando o produto fresco	
5	pouco agradável, limite inferior de aceitação pelo consumidor e comercialização	
9	extremamente aceitável, muito característico do produto	

## 2.7. Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdivididas, tendo nas parcelas, as atmosferas de conservação (2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub>; 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>; 10 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub> e atmosfera ambiente) e nas subparcelas, os períodos de avaliações (0, 4, 8, e 12 dias), em três repetições para cada tratamento. Os dados foram submetidos a análises de variância com o auxílio do programa de computação SAEG 9, da Central de Processamento de Dados da UFV. Foi aplicado o teste de Tukey, em nível de 5 % de probabilidade, para detecção de diferenças de médias entre tratamentos. Para as avaliações de taxa respiratória e compostos fenólicos, procedeu-se a análise estatística descritiva, sendo os resultados comparados com base nas médias seguidos dos respectivos desvio padrões.

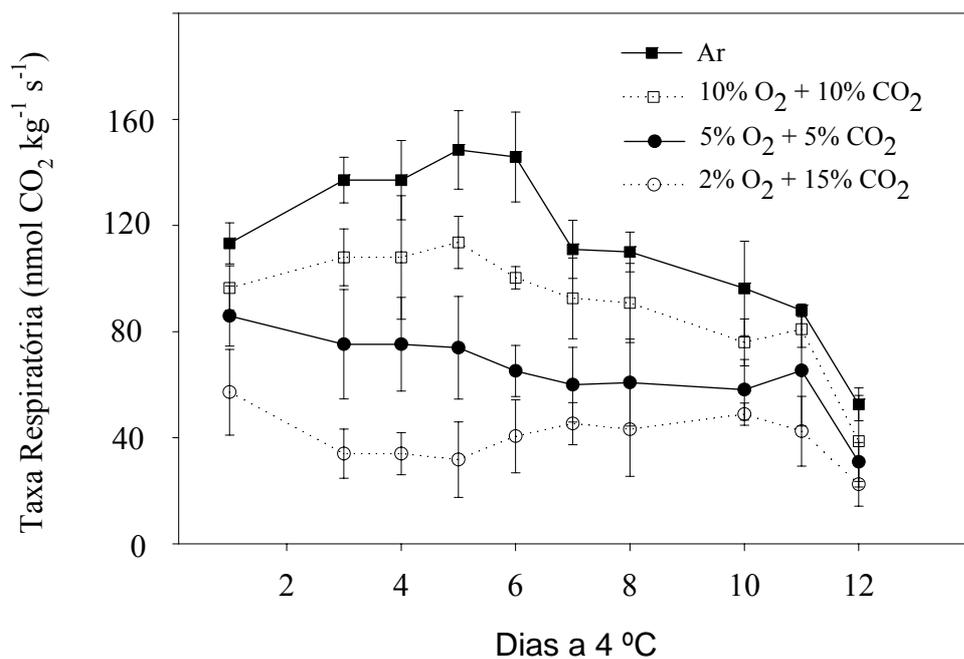
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Produção de CO<sub>2</sub>

Minicenouras mantidas ao ar possuíram maiores taxas respiratórias ao longo da conservação, seguido da ordem decrescente de 10 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub> > 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> > 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub>. Ao final de 12 dias, as taxa respiratórias pouco diferiram para as diferentes condições de conservação (Figura 1).

Os aumentos iniciais na produção de CO<sub>2</sub> ocorreram sob atmosferas de 10 % de O<sub>2</sub> + 10 % de O<sub>2</sub> e ambiente. Por outro lado, sob atmosferas de 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub> e 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>, ocorreram reduções gradativas na respiração, desde o início da conservação. Esses resultados sugerem que o incremento inicial na respiração após o corte, pode ser minimizado e/ou suprimido por atmosfera com baixos níveis de oxigênio.

A indução na taxa respiratória é dependente de vários fatores externos como intensidade de corte (Zhu et al., 2001), temperatura de conservação, atmosfera em que o produto está submetido (Watada et al., 1996), dentre outros. Os resultados desse trabalho evidenciaram que os primeiros dias de conservação são decisivos para incrementos na produção de CO<sub>2</sub>, como observado por Surjadinata et al. (2003) em cenoura minimamente processada.



**Figura 1.** Produção de CO<sub>2</sub> de minicenouras submetidas a diferentes atmosferas compostas por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> ao longo de 12 dias de conservação, a 4 °C.

Observou-se que minicenouras submetidas a atmosferas de 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub> e 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>, respiraram menos, em relação às demais atmosferas. Atmosferas compostas por 0,5 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub>, resultaram em benefício na conservação de cenouras cortadas em fatias, pedaços e raladas, mantidas a 0 e 5 °C (Izumi et al., 1996). Porém, baixas concentrações de O<sub>2</sub>, igual ou inferior a 2 %, podem resultar em atmosfera com maior ocorrência de respiração anaeróbica, em virtude das flutuações na temperatura, que geralmente acontecem na logística de distribuição, ou até mesmo, nas gôndolas de supermercados (Brecht, 2006). Assim, sugere-se que a atmosfera composta por 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub>, poderia ser uma atmosfera alternativa àquelas já estudadas em outros trabalhos (Carlin et al., 1990; Babic et al, 1993; Izumi et al., 1996; Barth et al., 2004; Alasavar et al., 2005).

### 3.2. Ácido ascórbico (AA) e ácido dehidroascórbico (ADHA)

Minicenouras mantidas nas distintas atmosferas estudadas tiveram redução gradual de AA e ADHA ao longo da conservação, apresentando a atmosfera

correspondendo a 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub> perdas menos acentuadas em relação às demais (Figura 2A e B). As perdas nesses constituintes foram intensas chegando a alcançar cerca de 50 % aos oito dias de conservação, em todas as condições estudadas (Figura 2A).

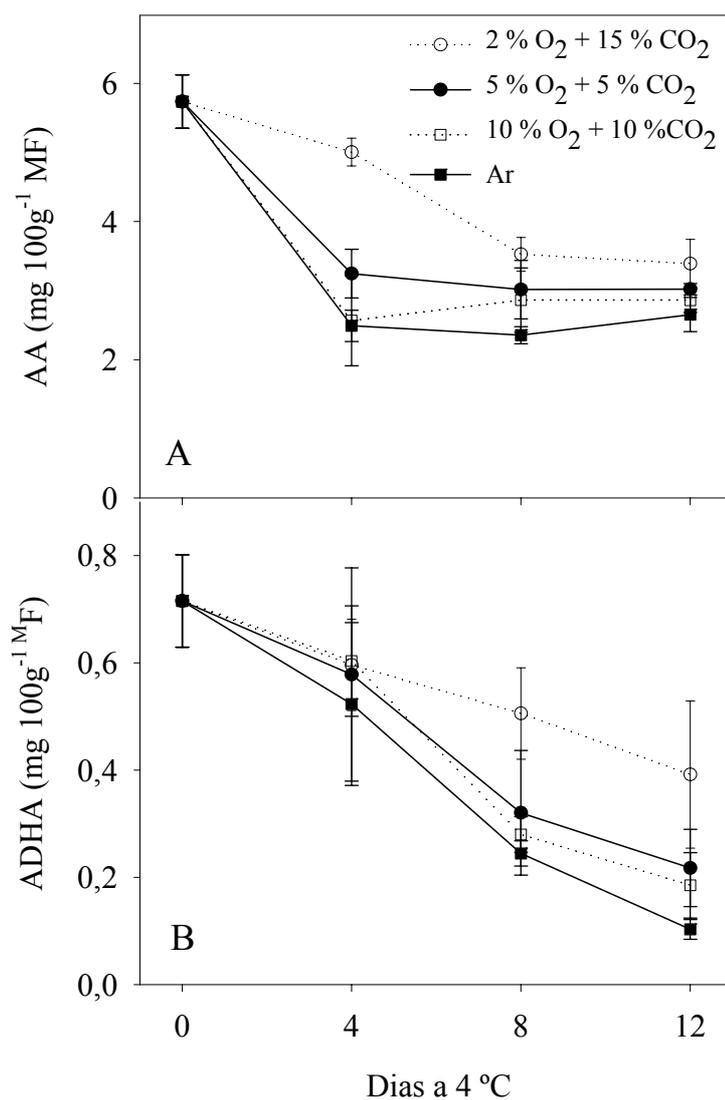
O ácido ascórbico teve maior contribuição para vitamina C, representando cerca de 90 % desse fitoquímico (Figura 2A e B). A Vitamina C pode ser representada pelo somatório de ácido ascórbico e ácido desidroascórbico (Wills et al., 1984). Ambos os componentes são sensíveis à oxidação quando os tecidos vegetais são submetidos a diferentes manuseios e condições de conservação, como danos físicos, altas ou baixas umidade relativa na conservação e injúria por frio (Lee e Kader, 2000). Diferentes genótipos também podem apresentar distintos teores de AA e ADHA durante sua conservação (Tudela et al., 2002).

A atmosfera composta por 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub> promoveu uma menor perda de ácido ascórbico até o quarto dia de conservação (Figura 2A), indicando que atmosfera com menores níveis de O<sub>2</sub> podem retardar a perda desse fitoquímico. Isso também foi observado em rúcula minimamente processada (Martinez-Sanchez et al., 2006).

Ao final da conservação, os teores de AA e ADHA estavam baixos e praticamente semelhantes, o que prova a rápida oxidação da vitamina C. Mesmo os reduzidos níveis de oxigênio não foram suficientes em manter estáveis os conteúdos de AA e ADHA em minicenoura por longos períodos. A participação do oxigênio na degradação da vitamina C é bem conhecido (Saari et al., 1995), assim como algumas enzimas como a oxidase do ácido ascórbico, além de outras como peroxidase, oxidase do citocromo e polifenol oxidase, embora estas possam participar de reações secundárias (Klein, 1986).

Em hortaliças folhosas, parece que o teor de AA, de ADHA e sua relação com os compostos fenólicos, são indicadores de suscetibilidade ao escurecimento (Del'Innocent et al., 2007). No caso de cenoura, o escurecimento parece não ser o principal causador de perda de qualidade, talvez a importância desse constituinte seja apenas a nível nutricional.

Os resultados obtidos sugerem que o ácido ascórbico representou uma maior proporção para vitamina C em em relação ao dehidroascórbico, em minicenoura. Além disso, vitamina C não é abundante em minicenoura, em comparação com outras hortaliças, tornando relevante sua conservação com níveis baixos de oxigênio.



**Figura 2.** Ácido ascórbico (AA) e ácido desidroascórbico (ADHA) em minicenouras submetidas a diferentes atmosferas compostas por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> ao longo de 12 dias de conservação a 4 °C.

### 3.3. Carotenóides

O carotenóide β-caroteno, apresentou as maiores proporções em tecido de minicenoura, cerca de 95 % (Tabela 1), como também verificado por Surles et al. (2004).

**Tabela 1.** Conteúdo de luteína,  $\alpha$  -caroteno,  $\beta$  - caroteno e carotenóides totais em minicenouras submetidas a diferentes atmosferas compostas por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> ao longo de 12 dias de conservação a 4 °C.

Dias	Atmosfera, %O <sub>2</sub> + %CO <sub>2</sub>	Carotenóides <sup>a</sup> , mg 100g <sup>-1</sup> MF			
		Luteína	$\alpha$ -caroteno	$\beta$ - caroteno	Total
0	Ar	0,2 a	0,7 a	24a	25a
	2 + 15	0,1 b	0,5 b	20 b	21 b
12	5 + 5	0,2 a	0,5 b	21 b	22 b
	10 + 10	0,1 b	0,5 b	18 bc	19 bc
	Ar	0,2 a	0,4 b	14 c	15 c

<sup>a</sup> Os dados foram obtidos de médias de três determinações sob base peso fresco (MF). Médias seguidas de letras diferentes na coluna, significam diferenças ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tuckey.

Observou-se que, após 12 dias de conservação a 4 °C, as minicenouras perderam significativamente ( $p < 0,05$  %) carotenóides totais,  $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos e luteína, em relação ao dia inicial. Nesse sentido, aos 12 dias, observou-se que os teores de  $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos e carotenóides totais, nos tecidos de minicenouras, apresentaram a seguinte ordem de concentração decrescente, em função da atmosfera de conservação: 2 % de O<sub>2</sub> + 15 % de CO<sub>2</sub> ~ 5 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub>  $\geq$  10 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub>  $\geq$  atmosfera ambiente (Tabela 1).

Os resultados desse trabalho mostraram que minicenoura mantidas em condição de 5 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub> e 2 % de O<sub>2</sub> + 15 % de CO<sub>2</sub>, apresentaram perdas entre 15 e 20 % dos conteúdos iniciais de carotenóides totais, respectivamente, e perdas variando de 30 a 40 % para atmosferas de 10 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> e ambiente, respectivamente (Tabela 1). Os níveis de carotenóides em cenouras minimamente processadas variam de acordo com as condições de conservação (Hager e Howard 2006). Perdas próximas a 30 % de carotenóides totais foram observadas por Li e Barth (1998) em minicenouras após quatro semanas de conservação refrigerada. Por outro lado, cenouras raladas conservadas em refrigeração perderam apenas 19% de carotenóides (Howard e Dewi, 1996 e Alasavar et al., 2005).

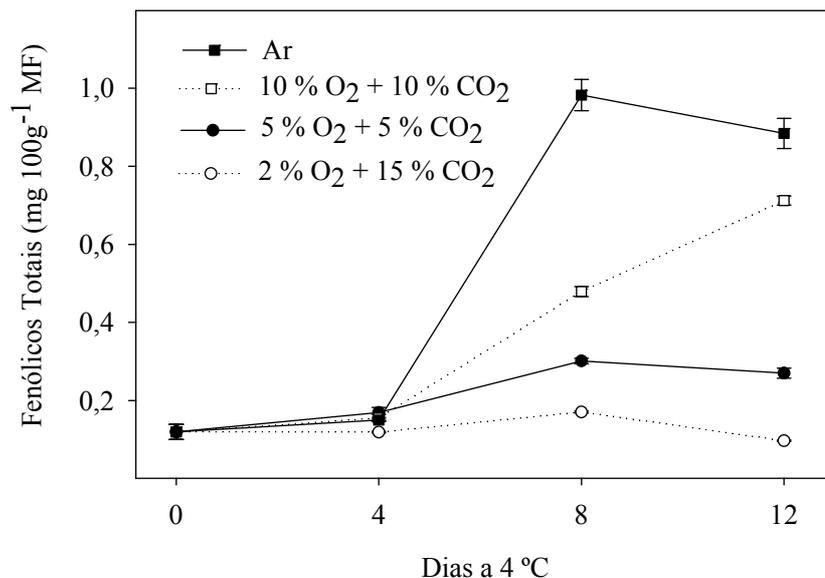
As diferenças encontradas nos teores de luteína,  $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos e nos carotenóides totais, em função da atmosfera de conservação, pode ser devido à auto-oxidação dos carotenóides, ou por incrementos na atividade enzimática responsável pela sua degradação (Gross, 1991) uma vez que muitas enzimas são induzidas por corte ou

ferimento (Rolle e Chism, 1987). Portanto, esses resultados evidenciaram que a atmosfera de conservação influenciou a retenção do conteúdo de carotenóides em minicenoura.

A conservação de minicenoura em atmosferas com baixos níveis de O<sub>2</sub> pode promover, indiretamente, maior oferta de carotenóides na alimentação humana, resultando em benefício para a saúde. Logo, as atmosferas compostas por 2 % O<sub>2</sub> + 15 % CO<sub>2</sub> e 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> proporcionaram menores reduções de carotenóides totais em tecidos de minicenoura ao final de 12 dias de conservação refrigerada.

### **3.4. Compostos fenólicos**

Foi observado incrementos no acúmulo de compostos fenólicos no tecido do floema secundário superficial em minicenouras, durante sua conservação, para todas as atmosferas avaliadas, com exceção da condição de 2 % de O<sub>2</sub> + 15 % de CO<sub>2</sub>, (Figura 3). Ocorreu acúmulo diferenciado de compostos fenólicos, a partir de oito dias (Figura 3). Ao final de 12 dias os tecidos de minicenouras acumularam, aproximadamente, dez vezes o conteúdo inicial de compostos fenólicos, quando mantidas em atmosfera ambiente; seis vezes, quando mantidas em atmosfera de 10 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub>, e duas vezes para atmosfera contendo 5 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub>. Para atmosfera composta por 2 % de O<sub>2</sub> + 15 % de CO<sub>2</sub>, o conteúdo de fenóis não alterou ao longo da conservação (Figura 3). Nesse trabalho, as duas atmosferas com menores níveis de oxigênio, proporcionaram menor acúmulo de compostos fenólicos (Figura 1).



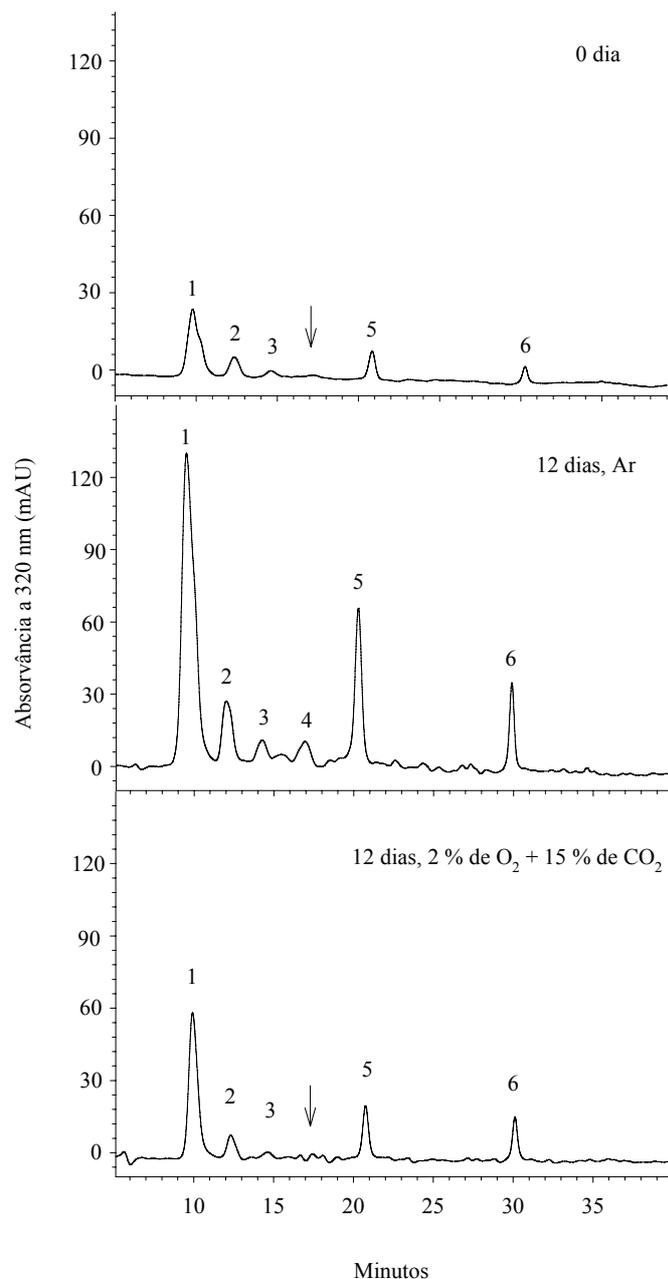
**Figura 3.** Compostos fenólicos totais presentes na superfície (2,5 mm) do floema secundário em minicenouras submetidas a diferentes atmosferas compostas por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> ao longo de 12 dias de conservação a 4 °C.

Os níveis de compostos fenólicos em cenoura minimamente processada aumentam significativamente durante a conservação refrigerada (Howard e Griffin, 1993; Hager e Howard, 2006; Lavelli et al., 2006) e a atmosfera de conservação tem fundamental importância no acúmulo desses compostos de acordo com Babic et al. (1993); Izumi et al. (1996) e Alasalvar et al. (2005).

De modo geral, observou-se que 90 a 95 % dos compostos fenólicos presentes em minicenoura durante a conservação foram ácidos clorogênicos (Figura 4 e Tabela 2), o que está de acordo com Kleiber et al. (2005). O composto predominante foi identificado como o isômero ácido 5-*O-trans*-cafeoil quínico (1; *t*-ACQ, ácido clorogênico). Além disso, foram encontrados, em menores proporções, os compostos: ácido 5-*O-cis*-cafeoil quínico (2; *c*-ACQ); ácido *O-p*-cumaroil quínico (3; ACoQ) e ácido 3,5-di-*O*-cafeoil quínico (5; diACQ). Os compostos correspondentes aos picos 4 e 6 não foram identificados.

Os cromatogramas representados na figura 4, correspondem ao perfil fenólico na porção superficial do floema secundário em minicenouras, no início da conservação (controle) e após 12 dias, nas atmosferas com menor nível de O<sub>2</sub> (2 % de O<sub>2</sub> + 15 % de CO<sub>2</sub>) e com maior nível de O<sub>2</sub> (atmosfera ambiente) (Figura 4).

Foram observados acúmulos diferenciais dos ácidos fenólicos identificados nas diferentes atmosferas compostas por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> ao longo da conservação (Tabela 2). Observou-se, com algumas exceções, que a conservação induziu incrementos no conteúdo dos ácidos fenólicos individuais, como também, quanto maior o nível de O<sub>2</sub>, mais intenso foi o acúmulo desses constituintes individuais (Tabela 2).



**Figura 4.** Perfil cromatográfico dos compostos fenólicos em tecido superficial (2,5 mm) do floema secundário de minicenoura, submetidas a diferentes atmosferas compostas por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> no início e aos 12 dias de conservação a 4 °C. (1) ácido 5-*O-trans*-cafeoil quínico; (2) ácido 5-*O-cis*-cafeoil quínico; (3) ácido *O-p*-cumaroil quínico; (4) não identificado; (5) ácido 3,5-di-*O*-cafeoil quínico e (6) não identificado. As setas (↓) indicam composto não detectável.

**Tabela 2.** Conteúdo de ácidos fenólicos em porção superficial (2,5 mm) do floema secundário de minicenouras submetidas a diferentes atmosferas compostas por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> ao longo de 12 dias de conservação a 4 °C.

Dias	Atmosfera, %O <sub>2</sub> + %CO <sub>2</sub>	Ácidos Fenólicos <sup>a</sup> , µg 100g <sup>-1</sup> MF					
		t-ACQ	c-ACQ	c-ACoQ	ni <sup>b</sup>	di-ACQ	ni <sup>b</sup>
0	Ar	40 ± 0,2	21 ± 0,9	13 ± 4,0	nq <sup>c</sup>	36 ± 0,4	42 ± 1,4
4	2 + 15	64 ± 0,5	19 ± 0,2	nq <sup>c</sup>	19 ± 0,2	19 ± 0,2	17 ± 2,0
	5 + 5	54 ± 1,8	18 ± 0,6	20 ± 0,5	25 ± 1,3	38 ± 0,8	33 ± 1,7
	10 + 10	46 ± 1,2	18 ± 0,1	18 ± 0,1	21 ± 0,8	49 ± 1,3	21 ± 1,0
	Ar	76 ± 0,3	76 ± 0,3	17 ± 0,7	18 ± 0,1	19 ± 0,4	20 ± 0,2
8	2 + 15	85 ± 0,4	28 ± 0,02	19 ± 0,1	18 ± 0,3	27 ± 0,2	21 ± 0,1
	5 + 5	93 ± 0,4	93 ± 0,4	48 ± 0,1	24 ± 0,3	93 ± 0,4	42 ± 1,6
	10 + 10	343 ± 0,4	50 ± 0,9	30 ± 0,1	28 ± 0,2	26 ± 0,1	51 ± 1,0
	Ar	711 ± 15,8	131 ± 4,3	61 ± 2,0	34 ± 0,2	120 ± 1,0	57 ± 0,7
12	2 + 15	556 ± 0,8	19 ± 0,9	nq <sup>c</sup>	nq <sup>c</sup>	21 ± 0,4	20 ± 0,1
	5 + 5	131 ± 4,5	245 ± 1,2	22 ± 0,4	21 ± 0,5	48 ± 0,6	48 ± 0,2
	10 + 10	432 ± 2,9	64 ± 0,5	31 ± 0,4	37 ± 0,6	67 ± 4,4	79 ± 0,3
	Ar	693 ± 12,2	53 ± 0,7	29 ± 1,2	41 ± 0,7	130 ± 1,5	58 ± 0,7

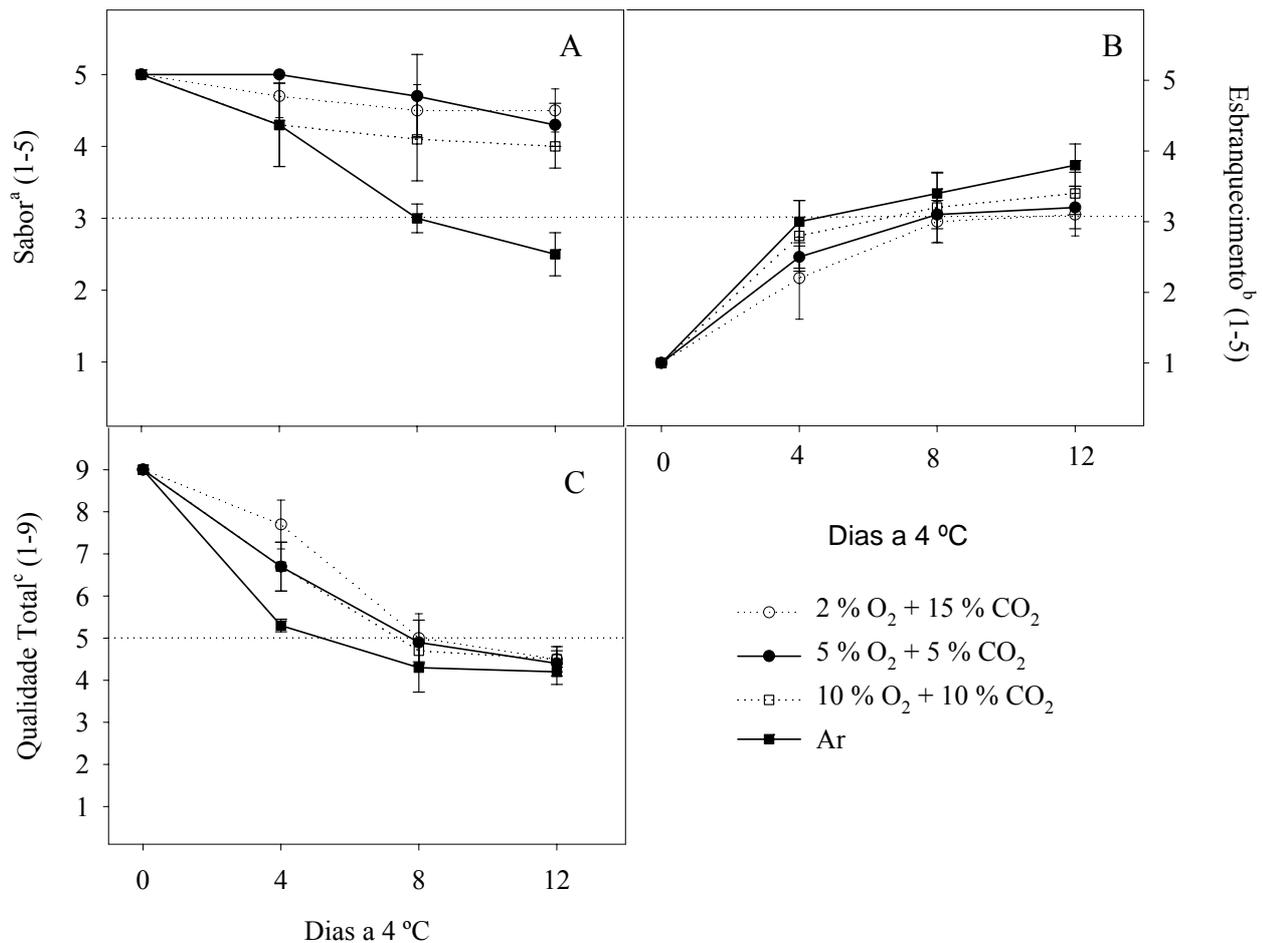
<sup>a</sup> Os dados foram obtidos de médias de três determinações sob base peso fresco (MF); <sup>b</sup>ni, não identificado. (t-ACQ) ácido 5-*O-trans*-cafeoil quínico; (c-ACQ) ácido 5-*O-cis*-cafeoil quínico; (ACoQ) ácido *O-p*-cumaroil quínico ; (di-ACQ) ácido 3,5-di-*O*-cafeoil quínico e (nq<sup>c</sup>)- não quantificado.

### 3.5. Avaliação sensorial

Minicenouras que foram conservadas em atmosferas controladas apresentaram pequenas reduções nos valores médios de notas que representaram o sabor, em relação àquelas que estavam em atmosfera ambiente (Figura 5A). A atmosfera ambiente foi a única condição que obteve notas pelo painel sensorial igual ou inferior a três, após oito dias de conservação, devido à percepção de um sabor amargo (Figura 5A).

A avaliação do sabor foi representado pela variação de doce, perda de doçura e percepção de amargor, indicando, nessa ordem, perda de qualidade em minicenouras, como também avaliado por Hohn et al. (2003) e Klaiber et al. (2005a). Existe uma boa correlação entre sabor e açúcares (Seljasen et al., 2001; Talcott e Howard, 1999). Assim, acredita-se que uma criteriosa avaliação sensorial de sabor pode substituir a quantificação de açúcares. A perda de sabor, durante a conservação das minicenouras, percebida pelo painel sensorial (Figura 5), pode ser resultado da redução do conteúdo de açúcares totais, embora este não tenha sido quantificado. Por outro lado, o sabor amargo foi perceptível pelo painel sensorial, apenas em minicenouras mantidas sob atmosfera ambiente.

O esbranquecimento na superfície de minicenouras contribuiu para a perda de qualidade visual. Em todas as atmosferas às quais minicenouras foram submetidas, observaramu-se incrementos nos valores médios das notas visuais de esbranquecimento, significando evolução do esbranquecimento (Figura 5B). Aos quatro dias de conservação, quase todas as minicenouras apresentaram notas em torno de três, ou seja, acima de 50 % da superfície esbranquecida (Figura 5B). Isso sugere que em minicenoura, a atmosfera com baixos níveis de  $O_2$  e ou elevados de  $CO_2$ , reduziram as taxas respiratórias, mas não foi suficiente para manter a qualidade visual, por não minimizar a perda de água superficial.



**Figura 5.** Sabor (A), esbranquecimento (B), e qualidade total (C), atribuídos por um painel sensorial para minicenouras mantidas a 4 °C em diferentes atmosferas compostas por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> ao longo de 12 dias de conservação.

<sup>a</sup>5 = doce, 3 = não doce/limite de aceitação e 1 = amargo;

<sup>b</sup>1 = superfície não esbranquecida/superfície cor laranja; 2 = 1 a 15 % da área superficial esbranquecida, iniciando nas extremidades, mas não comprometendo a qualidade; 2,5 = 16 a 50 %, esbranquecimento moderado; 3 = 51 a 70 % esbranquecimento avançado, limite de aceitação; 4 = 71 a 80 % esbranquecimento severo; 5 = 81 a 100 % extremamente esbranquecido;

<sup>c</sup>9 = excelente, extremamente aceitável, 5 = pouco agradável, limite inferior de aceitação pelo consumidor, e 1 = extremamente desagradável, não caracterizando o produto fresco.

O esbranquecimento vem sendo documentado em trabalhos científicos desde a década de 90, a partir dos primeiros trabalhos de Bolin e Huxoll (1991) e Tatsumi et al., (1991). Atualmente, sabe-se que o esbranquecimento pode ser quantificado matematicamente por meio de um índice conhecido como Índice de Esbranquecimento, IE, utilizado em trabalhos de Bolin e Huxoll (1991) e Li e Barth (1998) e muitos outros.

Esse índice pode ser correlacionado com notas visuais sensoriais (Avena-Bustillos et al., 1994 e Lavelli et al., 2006). No presente trabalho, utilizou-se avaliações sensoriais, para representação do esbranquecimento, por ser mais sensível do que a referida avaliação instrumental (Simões et al., 2007), pois os valores do IE podem variar de acordo com a abrasão do tecido, a cor natural da cenoura, e outros, tornando-se fontes de variação experimental (Avena-Bustillos et al., 1994).

A qualidade total das minicenouras foi reduzida significativamente durante a conservação (Figura 5C). A qualidade total representou a contribuição de todos os parâmetros avaliados, refletindo na aceitação ou não do produto para sua comercialização. Nesse sentido, os fatores que mais contribuíram para perda de qualidade total, nas distintas condições de conservação, foram a aparência e o sabor. O aroma e a firmeza não apresentaram nenhuma variação ao longo da conservação (dados não mostrados). A partir de quatro dias, minicenouras mantidas em condição de atmosfera ambiente, e aos oito dias para as demais atmosferas, perderam aceitação comercial, representada por notas igual ou inferior a 5 (Figura 5C).

O painel sensorial detectou amargor nas minicenouras submetidas à atmosfera ambiente (figura 5A). Os compostos 6-methoxymelleina, gazarina, eugenina e terpenos, falcarinol, falcarindiol ou falcarindiol 3-acetato, foram considerados responsáveis diretamente pelo amargor em cenoura (Talcott et al., 2001; Czepa e Hofmann et al., 2003). No entanto, nenhum destes compostos, foram identificados no presente trabalho. Por outro lado, outros ácidos fenólicos foram intensamente acumulados, quando minicenouras foram mantidas em atmosfera ambiente, podendo esses terem alguma contribuição no sabor amargo percebido pelo painel sensorial.

Os resultados obtidos, na prática, que a atmosfera composta por 5 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub> pode representar menor risco à respiração anaeróbica em relação à atmosfera de 2 % de O<sub>2</sub> + 15 % de CO<sub>2</sub>, caso haja alguma interrupção da cadeia de frio. Além disso, aquela atmosfera também contribuiu, com menor intensidade, para menores perdas da maioria dos fitoquímicos estudados, com exceção para o ácido ascórbico e desidroascórbico, aos oito dias a 4 °C.

A atmosfera de 5 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub> não foram suficientes para manter a qualidade total de minicenoura, em virtude do esbranquecimento na superfície. Logo, essa atmosfera deve ser, preferencialmente, associada ao uso de tecnologias que mantenham hidratada a superfície de minicenoura, ou que minimize sua desidratação superficial.

#### **4. CONCLUSÕES**

Minicenouras conservadas em atmosferas compostas por 2 % de O<sub>2</sub> + 15 % de CO<sub>2</sub> e 5 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub> apresentaram menores taxas respiratórias e mantiveram estáveis por mais tempo alguns componentes fitoquímicos, como ácido ascórbico, desidroascórbico, carotenóides totais e compostos fenólicos. A atmosfera de 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> foi, dentre as estudadas, a mais adequada para conservação de minicenouras ao longo de 12 dias, mas não foi suficiente para manter sua qualidade total, em virtude do esbranquecimento na sua superfície, perceptível a partir de 4 dias. Logo, a condição de 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> deve estar associada a uma tecnologia que permita menor desidratação das minicenouras durante a conservação refrigerada.

## 5. REFERÊNCIAS

- Alasavar, C.; Grigor, J. M.; Zhang, D.; Quantick, P. C. and Shahidi, F. 2001. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *J. Agr. Food. Chem.*, 49: 1410-1416.
- Alasavar, C.; Al-Farsi, M.; Quantick, P. C. Shahidi, F. and Wiktorowicz, R. 2005. Effect of chill storage and modified atmosphere packaging (MAP) on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics, and sensory quality of ready-to-eat shredded orange and purple carrots. *Food Chem.*, 89: 69-76.
- Avena-Bustillos, R. J., Cisneros-Zevallos, L. A., Krochta, J. M., Saltveit, M. E. 1994. Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. *Postharvest Biol. Technol.*, 4: 319-329.
- Babic, I.; Amiot, M. J.; Nguyen-the, C.; Aubert, S., 1993. Changes in phenolics content in fresh ready-to-use shredded carrots during storage. *J. Food Sci.*, 58: 351-356.
- Barth, M.; Zhuang, H.; Saltveit, M. E. 2004. The commercial storage of fruits, vegetable and florist and nursery stocks. Volume III Fresh-Cut Produce. *Agricultural Handbook Number 66*. Edited by: Gross, K. C.; Wang, C. Y.; Saltveit, M. USDA.
- Bendich, A.; Olson, J. A. 1989. Biological actions of carotenoids. *FASEB J.*, 3: 1927-1932.
- Block, G. 1994. Nutrient sources of provitamin A carotenoids in the American diet. *Amer. J. Epidemiol.* 139: 290-293.
- Bolin, H.R.; Huxoll, C.C. 1991. Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *J. Food Sci.*, 56: 416-418.
- Brecht J. K. 1995. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *Hort Sci* 30(1):18–22.
- Brecht J. K. 2006. Controlled atmosphere, modified atmosphere and modified atmosphere packaging for vegetables. *Stewart Postharvest Review*, 5 (5): 1-6.

- Carnelossi, M.A.G.; Silva, E.O.; Campos, R. S. 2005. Puschmann, R. Respostas fisiológicas de folhas de couve minimamente processadas. Hort. Bras., 23(2): 215-220.
- Carlin, F.; Nguyen-the, C.; Chambroy, Y. and Reich, M. 1990. Effects controlled atmospheres on microbial spoilage, electrolyte leakage and sugar content of fresh 'ready-to-use' grated carrots. Int. J. Food Sci. Technol., 25: 110-119.
- Chinoy, N. J. 1984. The Role of Ascorbic Acid in Growth, Differentiation and Metabolism of Plants Martinus Nijhoff, The Hague, 332.
- Chlutz, E. De Vay, J. E. and Maxie, E. C. 1969. Ethylene-induced isocoumarin formation in carrot tissue. Plant Physiol., 44:235.
- Cisneros- Zevallos, L; Saltveit, M. E. ; Krochta, J. M. 1995 Mechanism of surface white discoloration of peeled (minimally processed) carrots during storage. J. of Food Sci., 60, 320-323.
- Czepa, A. and Hofmann, T. 2003 Structural and sensory characterization of compounds contributing to the bitter off-taste of carrots (*Daucus carota* L.) and carrot puree. J. Agric. Food Chem., 51: 3865-3873.
- Del'Innocenti, E. Pardossi, A. Tognoni, F. Guidi, L. 2007. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarole' and 'rocket' salad when stored as fresh-cut products. Food Chemistry. 104: 209-215.
- Dixon, R. A. and Paiva, N. 1995. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. The Plant Cell, 7, 1085-1097.
- Fonseca, S. C.; Oliveira, F. A.; Brecht, J K.; Chau, K. V. 2003. Evaluation of the physiological response of shredded galega kale under low oxygen and carbon dioxide concentrations. Acta Hort. 600: 389-391.
- Gil, M.I., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A., 1999. Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach. J. Agric. Food Chem., 47: 2213–2217.
- Gross, J. 1991, Carotenoids distribution in vegetables. In: Pigments in vegetables, chlorophyll and carotenoids. Van Notstrand Reinhold, New York, p. 164-179.
- Gundgaard, J., Nielsen, J. N., Olsen, J., & Sorensen, J. 2003. Increased intake of fruit and vegetables: Estimation of impact in terms of life expectancy and healthcare costs. Public Health Nutrition, 6: 25–30.

- Hager, T. J. and Howard, L. R. 2006. Processing effects on carrot phytonutrients. *HortSci*. 41(1): 74-79.
- Harris, J.R., 1996. *Subcellular Biochemistry, Ascorbic Acid: Biochemistry and Biomedical Cell Biology*, v. 25. Plenum, New York.
- Hashimoto, K., Kawamata, S., Usui, N., Tanaka, A., & Uda, Y. 2002. In vitro induction of the anticarcinogenic marker enzyme, quinone reductase, in human hepatoma cells by food extracts. *Cancer Letters*, 180: 1–5.
- Hohn, E.; Scharer, H.; & Kunsch, U. 2003. Karottengeschmack-Beliebtheit, Süssigkeit und Bitterkeit. *Agrarforschung*, 10: 144-149.
- Howard, L. R. and Griffin, L. E., 1993. Lignin formation and surface discoloration of minimally processed carrot sticks. *J. Food Sci.*, 58 (5): 1065-1068.
- Howard, L. R. and Dewi, T. 1995 Sensory, microbiology and chemical quality of mini-peeled carrots as affected by edible coating treatment. *J. Food Sci.*, 60: 142-144.
- Howard, L. R. and Dewi, T. 1996. Minimal processing and edible coating effects on composition and sensory quality of mini-peeled carrots. *J. Food Sci.*, 61: 643-651.
- Izumi, H.; Watada, A. E.; Nathanee, P. K.; Douglas, W. 1996. Controlled atmosphere of carrot slices, sticks and shred. *Postharvest Biol. Technol.*, 9: 165-172.
- Kader, A.A., 1989. Mode of action of oxygen and carbon dioxide on postharvest physiology of 'Bartlett' pears. *Acta Horticulturae*, 258, 161–167.
- Klaiber, R. G.; Baur, S.; Wolf, G.; Hammes, W. P.; Carle, R., 2005a. Quality of minimally processed carrots as affected by warm water washing and chlorination. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6: 351-362.
- Klaiber, R. G.; Baur, S.; Koblo, A.; Carle, R., 2005. Influence of washing treatment and storage atmosphere on phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic acid content of minimally processed carrot sticks. *J. of Agric. Food Chemistry.*, 53: 1065–1072.
- Klein, B. P. 1987. Nutritional consequences of minimal processing of fruits and vegetables. *J. Food Quality*. 10: 179-193.
- Kris-Etherton, P. M., Etherton, T. D., Carlson, J., & Gardner, C. 2002. Recent discoveries in inclusive food-based approaches and dietary patterns for reduction in risk for cardiovascular disease. *Current Opinion in Lipidology*, 13: 397–407.

- Lavelli, V. Pagliarrini, E. Ambrosoli, R.; Minati, J. L.; Zanoni, B. 2006. Physicochemical, microbial, and sensory parameters as indices to evaluate the quality of minimally-processed carrots. *Postharvest Biol. Technol.* 40: 34-40.
- Li, P.; Barth, M. M., 1998. Impact of coatings on nutritional and physiological changes in lightly-processed carrots. *Postharvest Biol. Technol.*, 14: 51-60.
- López-Gálvez, G.; Saltveit, M.; Cantwell, M. 1996. The visual quality of minimally processed lettuces stored in air or controlled atmosphere with emphasis on romaine and iceberg types. *Postharvest Biol. and Technol.* 8: 179-190.
- Marín, A., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., 2004. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 52, 3861–3869.
- Martínez-Sánchez, A.; Marin, A., Llorach, R.; Ferreres, F., Gil, M. I. Gil. 2006. *Postharvest Biol. Technol.* 40: 26–33.
- Mínguez-Mosquera, M. I. and Hornero-Méndez, D. 1993. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.) Paprika, and Oleoresin by Reversed-Phase HPLC. *J. Food Chem.*, 41: 1616-1620.
- Mínguez-Mosquera, M.I., Garrido-Fernandez, J., 1989. Chlorophyll and carotenoid presence in olive fruit (*Olea europea*). *J. Agric. Food Chem.*, 37, 1–7.
- Mortensen, A.; Skibsted, L. H. and Truscott, T. G. 2001. The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Arch. Biochem. Biophys.*, 385: 13-19.
- Podsdek, A. 2007. Natural antioxidants and capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT.*, 40: 1-11.
- Lafuente, M. T. López-Galvéz, G.; Cantwell, M.; Yang, S. F. 1996. Factors influencing ethylene-induced isocoumarin formation and increasing respiration in carrot. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 121 (3): 537-542.
- Lee, S. K., Kader, A. A. 2000. Preharvest and Postharvest factor influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20 : 207-220.
- Loewus, F. A.; Loewus, M. W. 1987. Biosynthesis and metabolism of ascorbic acid in plants. *Critical Reviews in Plant Sci.*, 5(1): 101-119.
- Reyes, L. F.; Villareal, E.; Cisneros-Zevallos, L. 2007. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetables tissue. *Food Chemistry.*, 101: 1254-1262.

- Rico, D.; Martín-Diana, A. B.; Barat, J. M. and Barry-Ryan, C. 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Sci. & Technol.*, 18: 373-386.
- Rolle RS, Chism GW. 1987. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Qual.*, 10:157-77.
- Saari, N.B., Fujita, S., Miyazoe, R., Okugawa, M., 1995. Distribution of ascorbate oxidase activities in the fruits of family cucurbitaceae and some of their properties. *J. Food Biochem.*, 19: 321-327.
- Seljasen, R.; Bengtsson, G. B.; Hoftun, H. & Vogt, G. 2001. Sensory and chemical changes in five varieties of carrot (*Daucus carota* L.) in response to mechanical stress at harvest and post-harvest. *J. of the Sci. Food Agric.*, 81: 436-447.
- Siriphanich, J. and Kader, A. A. 1985. Effects of CO<sub>2</sub> on total phenolics, phenylalanine ammonia-lyase, and polyphenol oxidase in lettuce tissue. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 110: 249.
- Simões, A. N.; Costa, F. B.; Moreira, S. I.; Faria, L. C.; Santos, R. H. S.; Gil, M. I.; Puschman, R. 2006. Indução da fenilalanina amônia-lyase em minicenouras mantidas sob refrigeração. In: IV Encontro Nacional sobre Frutas e Hortaliças Minimamente Processadas. São Pedro, SP.
- Surjadinata, B. B.; Cisneros-Zevallos, L. 2003. Modeling wound-induced respiration of fresh-cut carrots (*Daucus carota* L.) *J. Food Sci.* 68:9; 2735-2740.
- Surles, R. Weng, N.; Simon, W. P. and Tanumihardjo, S. A. 2004. Carotenoid profiles and consumer sensory evaluation of specialty carrots (*Daucus carota*, L.) of various colors. *J. Agric. Food Chem.*, 52: 3417-3421.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2004. *Plant Physiology*. 3 ed.: Artmed 719p.
- Talcott, S. T. and Howard, L. R. 1999. Chemical and sensory quality of processed carrot puree as influenced by stress-induced phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 1362-1366.
- Talcott, S. T.; Howard, L. R.; Brenes, C. H. 2001. Factors contributing to taste and quality of commercially processed strained carrots. *Food Res. Int.* 34: 31-38.
- Tapadia S. B, Arya A.B, Rohini D. 1995. Vitamin C contents of processed vegetables. *J Food Sci Tech.*, 32(6):513-5.

- Tatsumi, Y.; Watada, A. E.; Wergin, W. P. Scanning electron microscopy of carrot stick surface to determined cause of white translucent appearance. *J. Food Sci.*, 56: 1357-1359, 1991.
- Tudela, J. A., Espín, J. C., Gil, M. I. 2002. Vitamin C in fresh-cut potatoes. *Postharvest Biology and Technol.*, 26: 75-84.
- Watada AE, Ko NP, Minott DA. 1996. Factors affecting the quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biol. Technol.*, 9:115–26.
- Wills, R.B.H., Wimalasiri, P., Greenfield, H., 1984. Dehydroascorbic acid levels in fresh fruit and vegetables in relation to total vitamin C activity. *J. Agric. Food Chem.* 32: 836–838.
- Zapata, S., Dufour, J. F. 1992. Ascorbic, dehydroascorbic and isoascorbic acid simultaneous determinations by reverse phase ion interaction HPLC. *J. Food Sci.*, 57: 506–511.
- Zhu M, Chu CL, Wang SL, Lencki RW. 2001. Influence of oxygen, carbon dioxide, and degree of cutting on the respiration rate of rutabaga. *J Food Sci.*, 66 (1):30–7.

## **CAPÍTULO 3**

### **REVESTIMENTO COMESTÍVEL CONTENDO QUITOSANA, ASSOCIADO À ATMOSFERA MODIFICADA MANTÉM QUALIDADE E ALTERA ACÚMULO DE FITOQUÍMICOS EM CENOURA-BASTÃO**

#### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar o efeito de imersão de cenoura tipo bastão em recobrimento comestível antimicrobiano a base de amido e quitosana, associado ao uso de atmosfera modificada sobre atributos sensoriais, microbiológico, no metabolismo respiratório, e em alguns compostos fitoquímicos. Para isso, cenouras-bastão foram imersas em suspensão contendo revestimento comestível, secas e mantidas em atmosfera ambiente, e em embalagens de poliestireno expandido e selada com dois filmes de polipropileno microperfurados (filme A e filme B), com diferentes permeabilidades a oxigênio ( $O_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ), e conservados 4 °C. A imersão de cenouras-bastão em suspensão de revestimento comestível, associado à sua secagem, resultou em incrementos na sua atividade respiratória durante a conservação a 4 °C, em relação às cenouras sem tratamento de revestimento e sem secagem. O esbranquecimento foi o principal responsável pela perda de qualidade total das cenouras-bastão. Cenoura tipo bastão com revestimento comestível contendo amido e quitosana como antimicrobiano, associado à atmosfera modificada, manteve a cor laranja original, na sua superfície; não apresentaram sabor estranho; mantiveram a qualidade microbiológica; tiveram seu metabolismo respiratório e seus níveis de ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos totais alterados durante sua conservação a 4 °C. Nas condições estudadas, cenoura tipo bastão com revestimento comestível antimicrobiano associado ao uso de embalagem com o filme de maior permeabilidade a  $O_2$ , resultou em cenoura com

qualidade sensorial e microbiológica por 12 dias de conservação a 4 °C, mesmo que tenham ocorrido algumas mudanças nos componentes fitoquímicos estudados.

## 1. INTRODUÇÃO

A aplicação de revestimentos em vegetais vivos formulados com ingredientes biológicos e comestíveis tem sido alvo de estudos desde 1986 por Kester; Fennema e Guilbert. Sabe-se que os revestimentos formam uma película superficial que pode minimizar a transferência de umidade e retardar o transporte de solutos e de gases (Guilbert, 1986; Li e Barth, 1998). De acordo com o produto, os benefícios os benefícios podem ser maiores, como reduzir o escurecimento em maçã cortada (Krochta, 1990) e o esbranquecimento em cenoura minimamente processada (Avena-Bustillos et al., 1994; Arruda, 2005), embora seja discutido a sua influência na perda de massa fresca (Henrique e Evangelista, 2006; Botrel et al., 2007).

Para cenoura minimamente processada foram extensivamente estudadas formulações de revestimento comestível que mantivessem a umidade superficial e minimizassem o esbranquecimento na superfície, principal problema dessa hortaliça (Howard et al., 1994; Howard and Dewi, 1996; Cisneros-Zevallos et al., 1997). Diversos são os polímeros que podem ser utilizados como base no revestimento em cenoura minimamente processada, como caseína (Avena-Butillos et al., 1994), celulose (Li e Barth et al., 1998), polímeros de polipeptídeos solúveis em água (Moretti et al., 2003), amido e quitosana (Durango et al., 2006) dentre outros. Recentemente, têm-se buscado adicionar aos ingredientes de revestimentos, agentes nutricionais como vitamina E e cálcio (Mei et al., 2002), antimicrobianos naturais, como a quitosana (Vargas et al., 2006; Durango et al., 2006); óleos essenciais com propriedades terapêuticas utilizado em temperos, como ácido turmérico, extraído de açafrão da Índia (Jagannatha et al., 2006), dentre outros. Todos têm como objetivo de incrementar compostos com baixo conteúdo natural e/ou compostos antimicrobianos que mantenham o alimento seguro por mais tempo.

A quitosana (poly  $\beta$ -[1 $\rightarrow$ 4] N-acetil-D-glicosamina), uma quitina na forma desaminada, é um antimicrobiano natural. Possui inúmeras aplicações na medicina, no meio ambiente, na alimentação, em cosméticos, e na agricultura, dentre outras. Na

agricultura, seu emprego está tomando importância pela sua atividade antimicrobiana sobre uma enorme diversidade de fitopatógenos (El Ghaouth et al., 1992, 1997; Reddy et al., 2000; Devlieghere et al., 2004). O poder antimicrobiano da quitosana depende de vários fatores como o grau de desacetilação, peso molecular, pH do meio e temperatura (Devlieghere et al., 2004). Nos EUA por exemplo, estão registrados três produtos a base de quitosana: o Elexa® (0,95 % de quitosana), o Hygra Yield Enhancing Seed Treating Agent (2,5 % quitosana) e o Yea Poly-D-Glucosamine Solution (2,5 % de quitosana) (Hirano, 1996).

É conhecido que a formulação da suspensão de revestimento antimicrobiano composto por amido de inhame (*Dioscorea* sp.), quitosana, glicerol e ácido acético glacial, mantém a cor laranja original e a qualidade microbiológica, por vários dias, de cenouras cortadas em rodela (Durango et al., 2006). Algumas mudanças na concentração de alguns desses ingredientes também foram benéficas para alho minimamente processado (Botrel et al., 2007). Resultados semelhantes foram observados por Puschmann et al. (2007) utilizando amido de milho e quitosana como base do revestimento em minicenoura. Neste, a atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) mostrou-se aumentada quando minicenouras foram previamente imersas nesse revestimento comestível e conservadas. Porém, alguns constituintes fitoquímicos não foram quantificados, como os compostos fenólicos; vitamina C e carotenóides, todos com propriedades antioxidantes (Podsdek, 2007).

A atmosfera modificada por oxigênio (O<sub>2</sub>) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é outro variante que, de acordo com muitos trabalhos, podem alterar ou manter a estabilidade desses fitoquímicos em minicenoura. Trabalhos realizados por Barry-Ryan et al. (2000); Silva (2003); Klaiber et al. (2004) e Klaiber et al. (2005) demonstraram a importância da embalagem na atmosfera de equilíbrio interno ideal, para cenoura minimamente processada na forma ralada. Das embalagens avaliadas por esses autores, a maioria polipropilenos com ou sem perfurações, obtiveram-se uma atmosfera modificada de equilíbrio correspondendo próximo a 10 % de O<sub>2</sub>. Esse nível de O<sub>2</sub> pode ser considerado alto, quando se considera a estabilidade dos componentes fitoquímicos, como vitamina C, carotenóides e compostos fenólicos.

Na escolha de embalagens ideais para a conservação de hortaliças minimamente processadas, deve ser levado em consideração a massa fresca do produto dentro da embalagem, sua respiração, a pressão parcial de O<sub>2</sub> fora e dentro da embalagem, a permeabilidade da embalagem e área superficial de troca gasosa (Cameron et al., 1989).

Em alguns estudos prévios, para se conseguir uma atmosfera modificada de equilíbrio com baixos níveis de oxigênio e dióxido de carbono, utilizou-se filmes plásticos de polipropileno com microperfurações orientadas, que, atualmente, estão sendo grandemente utilizados em produtos minimamente processados na Europa. Logo, o uso desses filmes, associados com revestimento comestível antimicrobiano, podem prolongar a conservação, mantendo a qualidade em cenoura-bastão.

O objetivo desse trabalho foi avaliar mudanças na respiração; na atmosfera interna da embalagem; na qualidade sensorial e microbiológica, e nos componentes fitoquímicos de cenoura tipo bastão, submetidas a revestimentos comestíveis antimicrobianos, a base de amido e quitosana e mantidas em duas embalagens com diferentes características de permeabilidades a oxigênio e dióxido de carbono.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Matéria-prima e processamento mínimo

Raízes de cenoura (*Daucus carota* L. cv. Tino) foram cultivadas em Arco de la Frontera (Cádiz, Espanha) pela Agícola Villena. Foram colhidas aos 110 dias após o plantio e transportadas ao Centro de Edafologia e Biologia Aplicada del Segura (CEBAS), Murcia-Espanha. Foram lavadas em água corrente, selecionadas e mantidas por 24 horas a 5 °C.

Foram selecionadas cenouras de 2,5 a 3,0 cm de diâmetro mediano. Descartou-se 1,0 cm das extremidades inferior e superior, em seguida, cortou-se em pedaços de 6,0 cm de comprimento e retirou-se a periderme. Todo o procedimento foi realizado com auxílio de facas afiadas. Em seguida, os seguimentos de cenouras foram imersos em água à 5 °C (enxágüe inicial), seguido de imersão, por 1 minuto, em água com hipoclorito a 80 mgL<sup>-1</sup>, pH 7 (sanitização), e drenadas por 30 segundos. O enxágüe final foi realizado imergindo as cenouras tipo bastão em água, a 5 °C, por 1 minutos e drenados por mais 30 segundos. Todo o processamento foi realizado em condição de 6 °C e 90 % de UR.

### 2.2. Imersão em suspensão de revestimento comestível

As cenouras-bastão, foram imersas, por 1 minuto, em suspensão contendo 1 % de amido de milho, 0,5 % de quitosana (75 a 85 % de desacetilação), 1 % de glicerol (Mali et al., 2002) e 0,5 % de ácido acético glacial (Durango et al., 2006) e mantidas sob ventilação com ar forçado por 2 a 2,5 horas em condição de 6 °C e 90 % de UR, para a secagem do revestimento.

As condições que caracterizaram os tratamentos foram: cenoura-bastão com revestimento e secas (+ Revestimento + Secagem); cenoura-bastão sem revestimento e secadas (- Revestimento + Secagem) e cenoura-bastão sem revestimento e não secas (- Revestimento – Secagem).

### **2.3. Produção de CO<sub>2</sub>**

Foi realizado como descrito no capítulo 2.

### **2.4. Revestimento comestível de cenoura-bastão e conservação em atmosfera modificada**

Cenouras bastão previamente imersas em suspensão contendo revestimento comestível foram secas nas mesmas condições descritas anteriormente. Foram embaladas em bandejas de polietileno tereftalato (PET) e seladas em dois tipos de polipropileno com microperfurações orientadas, 35 µm de espessura, e as seguintes características de permeabilidades ao oxigênio (PO<sub>2</sub>) e ao dióxido de carbono (PCO<sub>2</sub>): filme A, PO<sub>2</sub> ~ 12.000 mL m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>; PCO<sub>2</sub> ~ 26.000 mL<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>; filme B, PO<sub>2</sub> ~ 10.000 mL m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>; PCO<sub>2</sub> ~ 15.000 mL<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>.

As condições que caracterizaram os tratamentos foram: 140 ± 5 g de cenoura-bastão, sem revestimento comestível, embaladas em bandeja (~117 mm de diâmetro) e seladas com filme A (- Revestimento + Filme A); 200 ± 5 g de cenoura-bastão, sem revestimento comestível, embaladas em bandejas (118 x 80 x 60 mm, comprimento x largura x profundidade) e seladas com filme B (- Revestimento + Filme B); 140 ± 5 g de cenoura bastão, com revestimento comestível, embaladas em bandeja (~117 mm de diâmetro) e seladas com filme A (+ Revestimento + Filme A); 200 ± 5 g de cenoura-bastão, com revestimento comestível, embaladas em bandejas (118 x 80 x 60 mm, comprimento x largura x profundidade) e seladas com filme B (+ Revestimento + Filme B).

### **2.5. Composição interna de oxigênio (O<sub>2</sub>) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)**

Um adesivo septo foi fixado na parte superior externa de cada filme. As mudanças na concentração de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> interno da embalagem foram monitoradas perfurando o septo com ajuda de uma seringa. Foi coletado 1 mL de ar em cada embalagem, representando uma repetição, em um total de três repetições por tratamento. A alíquota de ar foi injetada em um analisador de gases (Horiba Via 510, Irving, USA).

## **2.6. Extração e análises de ácido ascórbico (AA) e ácido dehidroascórbico (ADHA); extração e análises dos carotenóides e extração, identificação e quantificação dos compostos fenólicos e avaliação sensorial.**

Foram realizadas semelhantes ao descrito no capítulo 2.

## **2.7. Avaliação microbiológica**

A microbiota presente nas cenouras-bastão foi avaliada pela contagem de bactérias ácido lácticas, mesófilos aeróbicos totais, coliformes termotolerantes, fungos filamentosos e leveduras.

Foram coletadas 25 g de minicenoura em sacos de stomacher. Em seguida, foi diluída a amostra de 1:10 em água peptonada a 0,2 % e se homogeneizou em stomacher por 90 segundos. Realizaram-se diluições decimais necessárias em tubo com água peptonada. Em seguida cultivou-se grupos de microorganismos em placas, em condições específicas para cada grupo.

O cultivo de bacterias acidolácticas foi realizado em ágar MRS (Agar Man, Rogosa e Sharpe) a 30 °C por 5 dias, em atmosfera anaeróbica com 5 - 10% CO<sub>2</sub> obtida em uma jarra de anaerobiose contendo uma vela.

O crescimento de mesófilos aeróbicos totais foi realizado em meio PCA (plate count agar) com incubação de 48 horas a 30 °C.

O crescimento de coliformes termotolerantes foi realizado em meio Chromocult (agar para coliformes) incubando a 44,5 °C por 24 horas.

O crescimento de fungos filamentosos e leveduras foram realizados em meio Rosa de Bengala, após 5 a 7 dias de incubação a 30 °C.

Todas as análises microbiológicas foram feitas em triplicata e os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de matéria fresca.

## **2.8. Análises estatísticas**

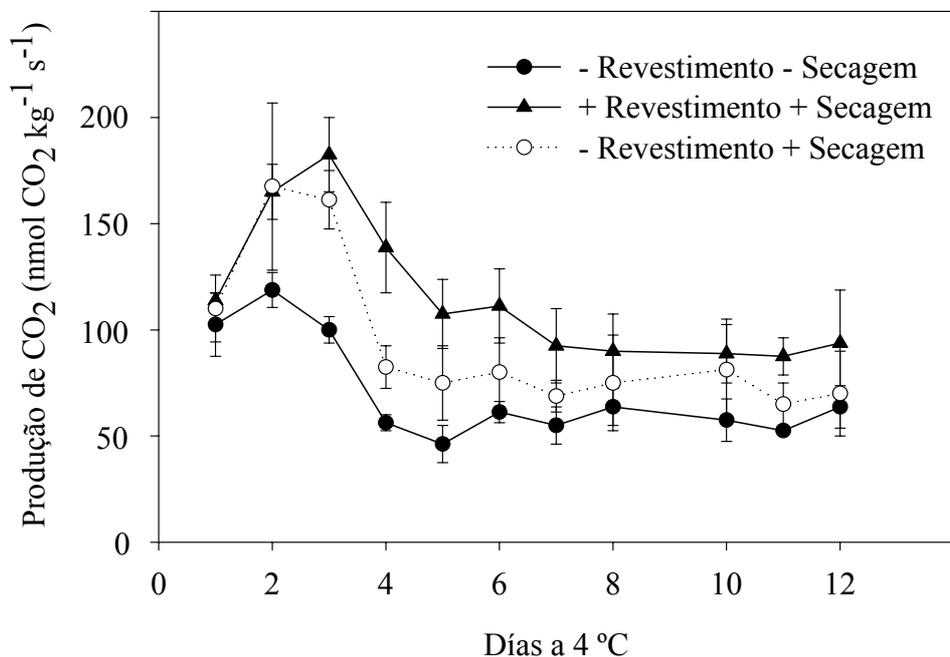
O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdivididas, tendo nas parcelas, as condições de conservação (- Revestimento + Filme A; - Revestimento + Filme B; + Revestimento + Filme A; + Revestimento + Filme B) e nas subparcelas, os períodos de avaliações (0, 4, 8, e 12 dias), com três repetições para cada tratamento. Os dados foram submetidos a análises de variância com o auxílio do programa de computação SAEG 9, da Central de Processamento de Dados da UFV. Foi aplicado o teste de Tukey, ao nível de 5 % de

probabilidade, para detecção de diferenças de médias entre tratamentos. Para as avaliações de taxa respiratória; atmosfera interna de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, microbiológicas e compostos fenólicos, procedeu-se à análise estatística descritiva, sendo os resultados comparados com base nas médias seguidos dos respectivos desvios-padrão.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Produção de CO<sub>2</sub> e composição interna de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>

Cenouras tipo bastão, mantidas em atmosfera ambiente, independente da aplicação de revestimento e/ou secagem, apresentaram incrementos na produção de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) nos primeiros dias de conservação (Figura 1). Porém, as cenouras-bastão com ou sem revestimento comestível, e secas, mantiveram ao longo da conservação, maiores taxas respiratórias, em relação às cenouras-bastão que não tinham revestimento nem foram secas (Figura 1).



**Figura 1.** Respiração de cenoura-bastão previamente imersa em suspensão contendo revestimento comestível (+) ou não (-); seguido de secagem (+) ou não (-), e conservadas a 4 °C em atmosfera ambiente.

O aumento inicial na respiração é característico em cenoura minimamente processada, podendo variar de acordo com a intensidade de corte (Zhu et al., 2001; Surjadinata et al., 2003), com a atmosfera composta por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (ver resultados, capítulo 2) e com diferentes manuseios durante o processamento mínimo (Klaiber et al., 2005a). Após esse incremento inicial na respiração, verificou-se uma queda e estabilidade, por volta dos 5 dias, caracterizada por uma constância nos valores de produção de CO<sub>2</sub>. Normalmente, esse comportamento respiratório é uma resposta às alterações ambientais impostas, como colheita, operações de descasque, corte e outros manuseios, realizados em produtos minimamente processados (Simões et al., 2007).

Observou-se que a secagem, por 2 a 2,5 horas em ventilação forçada de ar, e/ou o revestimento comestível, foram indutores da respiração. Esses resultados diferem dos propostos por Kester e Fennema et al. (1986) que relataram que o revestimento tem propriedades de formação de barreira a gases O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, reduzindo a taxa respiratória. Por outro lado, os mesmos autores comentaram que o revestimento pode, muitas vezes, ser prejudicial por ocasionar respiração anaeróbica. No presente trabalho, acredita-se que a respiração anaeróbica não aconteceu, pois de acordo com os resultados do painel sensorial, não foi percebida alteração no sabor, por percepção de sabor alcoólico (dados não mostrados).

É possível que alguns dos ingredientes do revestimento possam interagir com o tecido superficial e causar algum tipo de estresse, visualizado pelo incremento na respiração. Nesse caso, a quitosana é conhecida pelo seu papel como componente elicitador em células vegetais (Inbar et al., 1998; Mazaro, 2007). Devlieghere et al. (2004) e El-Ghauth et al. (1991) observaram que morango submetido à suspensão de quitosana com ácido láctico/lactato de sódio teve sua atividade respiratória induzida durante a conservação.

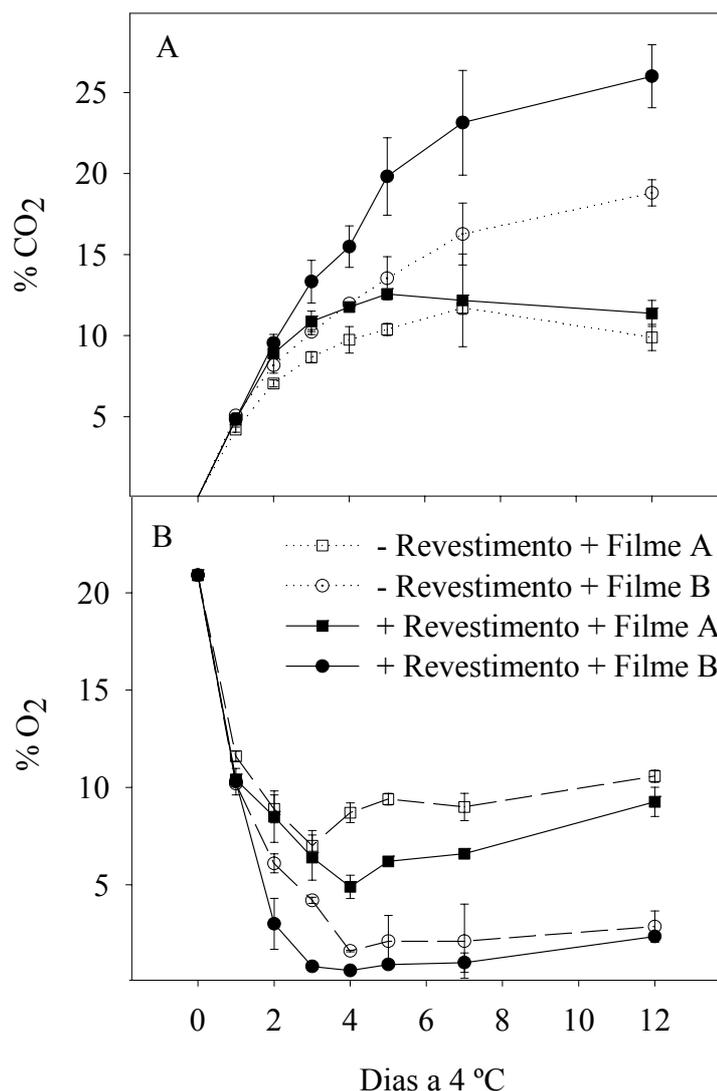
Os mecanismos de ação da quitosana não estão bem elucidados; várias hipóteses têm sido apresentadas, sendo uma delas relacionada à indução de resistência. Nesse caso, a quitosana age ligando-se a receptores presentes na membrana celular das plantas, mimetizando o fenômeno de reconhecimento que ocorre em uma interação incompatível entre a planta e o patógeno (Labanca, 2002). A quitosana pode inibir proteínases, induzir a produção de fitoalexinas, promover lignificação (Terry & Joyce, 2004), induzir a produção de compostos fenólicos (Bautista-Baños et al., 2006), ativar as enzimas quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases (El Ghaouth et al., 1992; Zhang & Quantick,

1998), fenilalanina amônia-liase (Romanazzi et al., 2002) e peroxidase (Zhang & Quantick, 1997), em tecidos vegetais.

Em função dessas respostas, acredita-se que seja a quitosana o ingrediente do revestimento responsável pelo incremento na respiração em cenoura-bastão conservada. Por isso, deve-se continuar os estudos, afim de saber o efeito isolado da quitosana e qual a concentração mínima indutora de respostas fisiológicas em cenoura minimamente processada.

A composição de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> dentro dos diferentes sistemas estudados apresentou comportamentos inversos. Enquanto que a curva que representou a produção de oxigênio reduziu intensamente nos primeiros dias; a curva que representou produção de CO<sub>2</sub> aumentou intensamente no mesmo período (Figura 2). Aparentemente, nos dois casos, a partir de cinco dias foi atingida a atmosfera modificada de equilíbrio para o oxigênio e para o dióxido de carbono (Figura 2). Esses resultados coincidem com o tempo de estabilização da respiração que ocorreu em atmosfera ambiente (ver Figura 1). A modificação da atmosfera de forma passiva, como ocorreu nesse trabalho, foi resultado direto do consumo de O<sub>2</sub> e produção de CO<sub>2</sub> por parte das cenouras, e da permeabilidade da embalagem a esses gases (Soares, 2002). Logo, sugere-se que o tratamento em que a respiração foi mais intensa (ver figura 1), quando cenouras-bastão foram embaladas, atingiram menores níveis de O<sub>2</sub> na atmosfera modificada de equilíbrio (Figura 2).

Verificou-se que cenouras bastão com ou sem revestimento, mas que foram mantidas nas embalagens com filme A, apresentaram níveis de O<sub>2</sub> de equilíbrio (AME) entre 6 e 8 %, enquanto que de CO<sub>2</sub>, cerca de 10 % (Figura 2A e B). Por outro lado, cenoura-bastão com ou sem revestimento comestível e mantidas em embalagem com filme B, os níveis de equilíbrio (AME) atingidos para O<sub>2</sub> foram entre 1 e 2 %, enquanto que o de CO<sub>2</sub> entre 15 e 25 %.



**Figura 2.** Composição gasosa interna [oxigênio (O<sub>2</sub>, A) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>, B)] em bandejas contendo cenoura-bastão, com ou sem revestimento comestível, embaladas em dois filmes e conservadas a 4 °C.

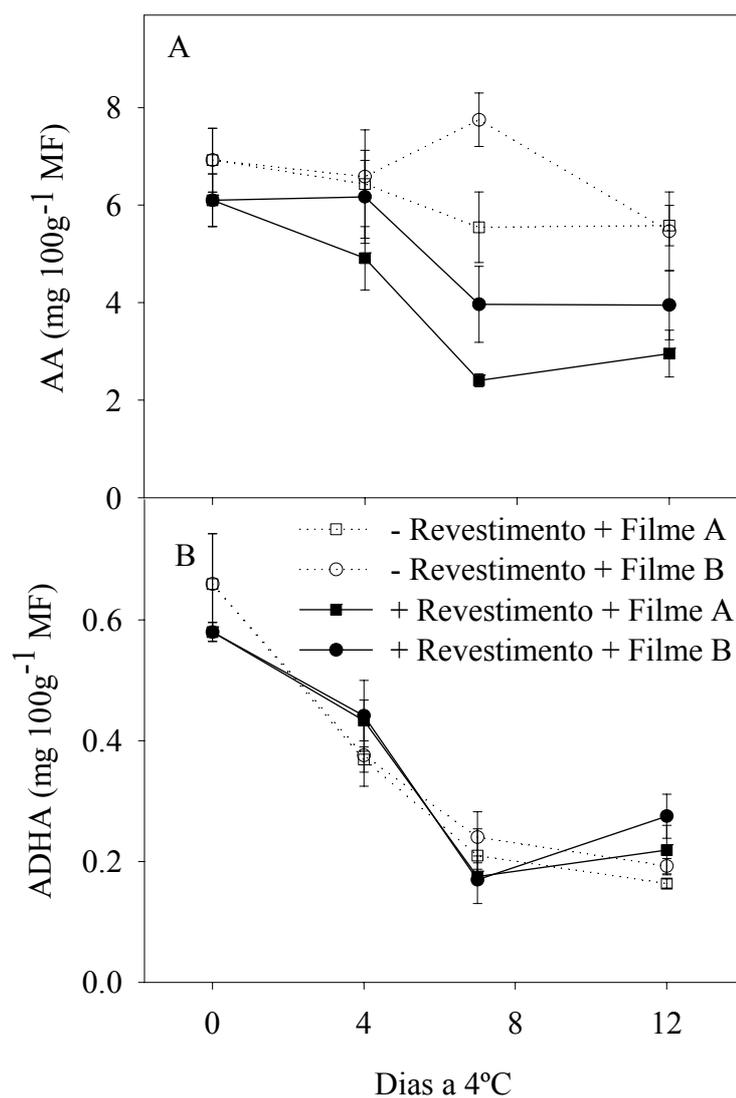
Na condição estudada, acredita-se que os tratamentos em que foram obtidos altos níveis de CO<sub>2</sub> e muito baixos de O<sub>2</sub>, podem não ser mais adequados, pois caso ocorra flutuações na temperatura durante a logística de distribuição ou mesmo nas gôndulas de supermercados, pode ocorrer respiração anaeróbica. Além disso, atmosferas com níveis inferiores a 2 % de O<sub>2</sub> e acima de 25 % de CO<sub>2</sub> podem induzir o crescimento de bactérias lácteas em cenoura (Carlin et al., 1990). Nesse sentido, a condição que manteve níveis de 6 a 8 % de O<sub>2</sub> e próximo a 10 % de CO<sub>2</sub> na AME parecem ser mais desejáveis para conservação de cenoura tipo bastão.

### **3.2. Ácido ascórbico (AA) e ácido dehidroascórbico (ADHA)**

O conteúdo de AA em cenoura-bastão apresentou redução a partir de quatro dias, independente das condições de conservação em que foram submetidas (Figura 3A). Ao final de 12 dias, cenouras-bastão, com revestimento comestível, mantidas embaladas em filme A ou B, apresentaram maiores perdas de ácido ascórbico em relação às que não receberam revestimento (Figura 3A).

O conteúdo de ADHA caiu a partir do primeiro dia de conservação, apresentando queda contínua ao longo de 12 dias, independente dos tratamentos estudados (Figura 3B).

Poucos são os trabalhos encontrados na literatura que quantificam ácido ascórbico e desidroascórbico em cenoura minimamente submetida a revestimento comestível. Talvez pela cenoura não ser rica naturalmente neste fitoquímico. Reyes et al. (2007) observaram perda de 82 % de ácido ascórbico quando cenoura foi minimamente processada. Isso indica a instabilidade desse fitoquímico com o processamento mínimo ou outras condições impostas ao tecido de cenoura, tornando relevante tecnologia de conservação que retenham por um período mais prologado esses fitoquímicos.



**Figura 3.** Ácido ascórbico, AA (A) e ácido dehidroascórbico, ADHA (B) em cenouras tipo bastão, com ou sem revestimento comestível, embaladas em dois filmes e conservadas a 4 °C.

### 3.3. Carotenóides

Os carotenóides identificados e quantificados nos tecidos de cenoura-bastão foram luteína,  $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos. O  $\beta$ -caroteno apresentou maior proporção em relação aos outros carotenóides, perfazendo cerca de 97 % dos carotenóides totais (Tabela 2).

**Tabela 1.** Conteúdo de luteína,  $\alpha$  -caroteno,  $\beta$  - caroteno e carotenóides totais em cenoura-bastão previamente imersas em suspensão de revestimento comestível, embaladas em dois filmes e conservadas a 4 °C.

Dias	Tratamentos	Carotenóides <sup>a</sup> , mg 100g <sup>-1</sup> MF			
		Luteína	$\alpha$ -caroteno	$\beta$ - caroteno	Total
0	Revestimento (+)	0,5 a	0,6 a	29 a	30 a
	Revestimento (-)	0,6 a	0,9 a	35 a	36 a
12	- Revestimento + Filme A	0,6 a	0,5 a	20 b	21 b
	- Revestimento + Filme B	0,5 a	0,5 a	29 a	30 a
	+ Revestimento + Filme A	0,5 a	0,3 b	20 b	21 b
	+ Revestimento + Filme B	0,3 b	0,6 a	20 b	21 b

<sup>a</sup> Os dados foram obtidos de médias de três determinações sob base peso fresco (MF). Médias seguidas de letras diferentes na coluna, significam diferenças ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tuckey.

No primeiro dia de avaliação (dia zero), observou-se que a prévia imersão da cenoura-bastão em suspensão de revestimento comestível, associado à secagem, com ventilação forçada de ar, por até 2,5 horas a 6 °C e 90 % de UR proporcionaram uma pequena redução, não significativa ( $p < 0,05$ ) no conteúdo de  $\beta$ -caroteno e nos carotenóides totais (Tabela 1).

Aos 12 dias conservação, cenouras bastão que não receberam revestimento, embaladas com filme B, apresentaram os mais elevados conteúdos de  $\beta$ -caroteno e carotenóides totais, provavelmente, porque nessas condições, os níveis de oxigênio na atmosfera interna das embalagens foram os mais baixos (1 a 2 %), quando atingiram a atmosfera modificada de equilíbrio. Embora não tenha sido observado o mesmo comportamento, quando cenouras tipo bastão receberam revestimento e mantidas no mesmo filme (Tabela 1).

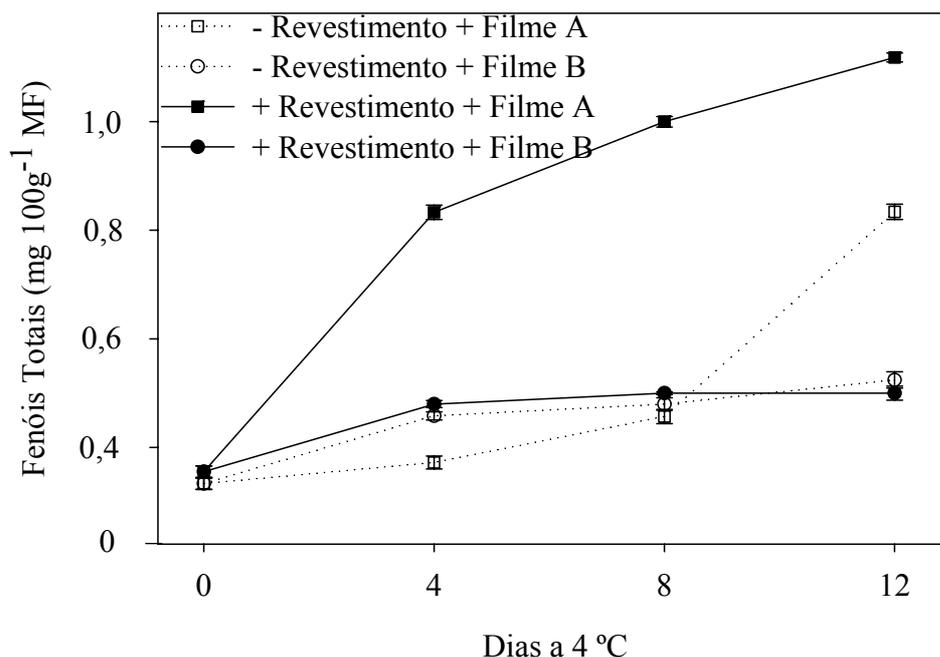
Notou-se que cenouras-bastão que receberam revestimento, independente do filme utilizado, perderam próximo a 35 % dos carotenóides em relação aos níveis iniciais com revestimento (Tabela 1). Por outro lado, cenoura bastão que não receberam revestimento e mantidas nos filmes A e B, perderam cerca de 40 e 17 %, respectivamente.

Esses resultados sugerem que os componentes do revestimento podem estimular redução no conteúdo de carotenóides, mesmo sabendo que uma das propriedades de recobrimentos comestíveis em formar uma barreira física, que minimiza a transferência de gases e retarda o transporte de solutos (Li e Barth, 1998). São necessários mais pesquisas para identificar os mecanismos de degradação dos carotenóides quando submetidos à quitosana.

### **3.4. Compostos fenólicos**

O revestimento comestível, assim como, a atmosfera interna composta por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, estimulou acúmulos diferenciais de compostos fenólicos em tecido de cenouras-bastão (Figura 4).

Quando cenouras tipo bastão não receberam revestimento comestível e foram mantidas embaladas com filmes A e B, ao final de 12 dias, o acúmulo de compostos fenólicos foi próximo a 4 e 2 vezes, respectivamente, do conteúdo inicial (Figura 4). A diferença entre esses dois tratamentos foi a AME, composta por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, que no filme A apresentou entre 6 e 8 % de O<sub>2</sub> e 10 % de CO<sub>2</sub>, contra 1 a 2 % de O<sub>2</sub> e 15 e 25 % de CO<sub>2</sub>, no filme B (Figura 4). Cenouras-bastão com revestimento comestível e mantidas embaladas em filme A, ao final de 12 dias, o acúmulo de compostos fenólicos foi próximo a 6 vezes do conteúdo inicial. Quando mantidas embaladas com filme B, o incremento foi próximo a 1,5 vezes do conteúdo inicial (Figura 4).



**Figura 4.** Compostos fenólicos totais presentes nos 2,5 mm superficiais, do floema secundário em cenoura-bastão, com ou sem revestimento comestível, embaladas em dois filmes e conservadas a 4°C.

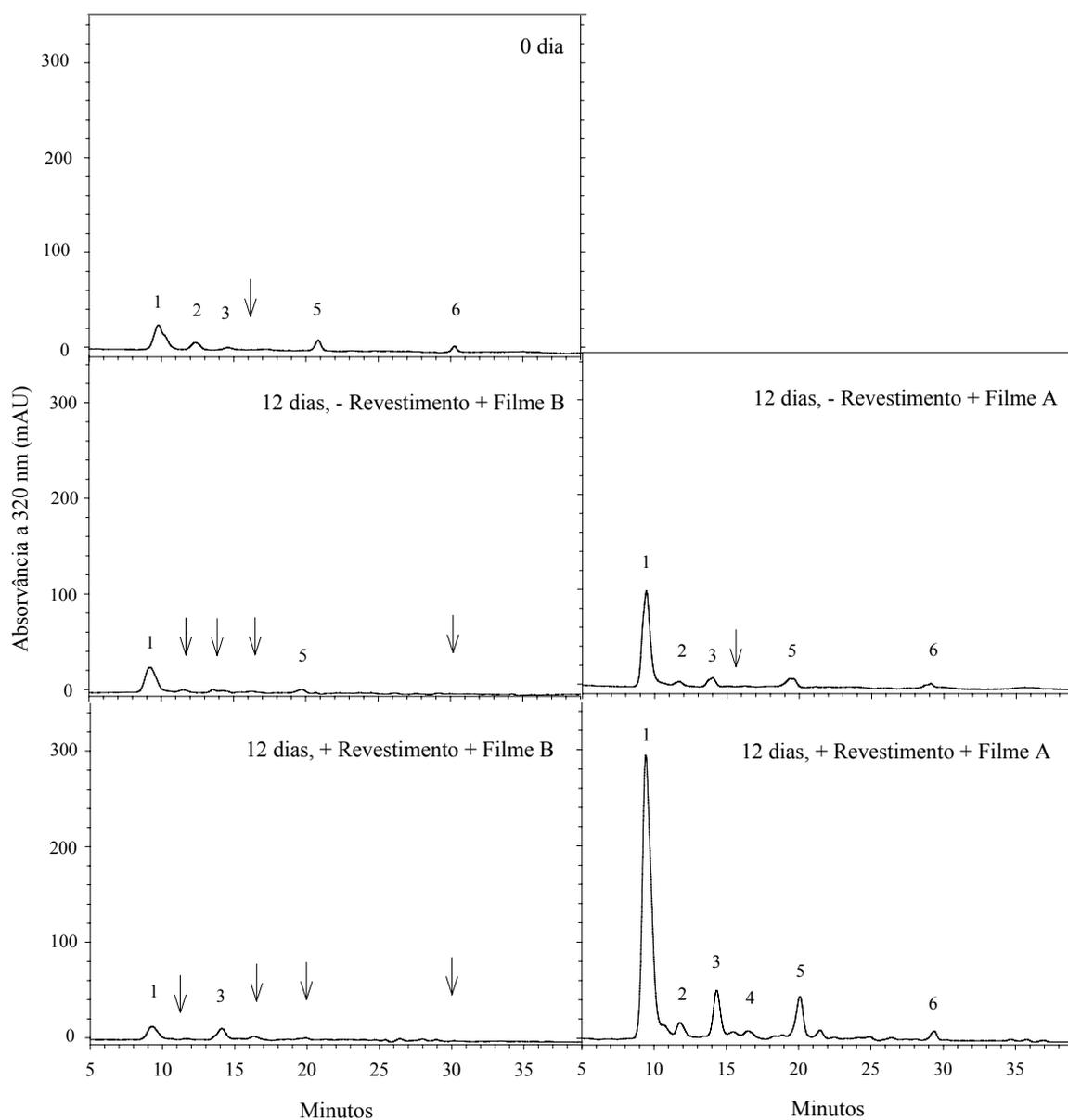
Verificou-se nesse trabalho que as atmosferas com menores níveis de O<sub>2</sub>, possibilitaram menor acúmulo de compostos fenólicos ao final da conservação. A causa disso, pode estar associado a uma menor atividade da FAL nessas condições (Klaiber et al., 2005b), ou mesmo pela inibição de sua *síntese de novo*, ou pela indução do sistema enzimático responsável por sua inativação em algumas plantas (Creasy, 1976; Bevan et al., 1989; Ritenour e Saltveit, 1996).

Nos últimos anos, têm-se demonstrado a importância dos compostos fenólicos como agentes antioxidantes, na capacidade de proteger e inibir a formação de tumores em diferentes estágios de desenvolvimento em células animais (Wenzel e Daniel, 1999 e Czevot, 2000), com atenção especial a derivados de ácido caféico, flavonóides, antocianinas e outros (Olthof et al., 2001; Ari et al., 2000; Lapidot et al., 1998). Por outro lado, os compostos fenólicos interferem na qualidade sensorial, representada pela cor, adstringência, amargor e aroma de frutos e hortaliças (Tomás-Barberán e Espín, 2001). Em cenoura, particularmente, os compostos fenólicos conhecidos como 6-methoxymelleina, gazarina, eugenina e terpenóicos, falcarinol, falcarindiol ou falcarindiol 3-acetato, são considerados responsáveis pelo amargor (Talcott et al., 2001;

Czepa e Hofmann et al., 2003). No presente trabalho, não foi evidenciado síntese *de novo* dos compostos acima citados, e sim acúmulos, de compostos pré-existentes (Figura 5).

De modo geral, observou-se que 90 a 95 % dos compostos fenólicos presentes em minicenoura durante a conservação, foram ácidos clorogênicos (Figura 5 e Tabela 2), como também observado por Klaiber et al. (2005b). O composto predominante foi identificado como o isômero ácido 5-*O-trans*-cafeoil quínico (1; *t*-ACQ, ácido clorogênico). Além disso, foram encontrados, em menores proporções, os compostos: ácido 5-*O-cis*-cafeoil quínico (2; *c*-ACQ); ácido *O-p*-cumaroil quínico (3; ACoQ) e ácido 3,5-di-*O*-cafeoil quínico (5; diACQ). Os compostos correspondentes aos picos 4 e 6 não foram identificados.

No dia zero, controle, independente da presença de revestimento no tecido, o perfil cromatográfico dos compostos fenólicos foram semelhantes (dados não mostrados). Por isso, mostrou-se o cromatograma correspondendo ao das cenouras-bastão sem revestimento (Figura 5, dia zero). Além disso, mostraram-se os cromatogramas correspondendo aos 12 dias de conservação, de cenoura-bastão nos diferentes tratamentos (Figura 5, 12 dias).



**Figura 5.** Perfil dos compostos fenólicos em tecido superficial (2,5 mm) do floema secundário de cenoura tipo bastão, obtidos por cromatografia líquida (CL) a 320 nm. Cromatograma do dia inicial (dia zero); e após 12 dias, de cenoura bastão com ou sem revestimento comestível, embaladas em dois filmes e conservadas a 4 °C. **(1)** ácido 5-*O*-*trans*-cafeoil quínico; **(2)** ácido 5-*O*-*cis*-cafeoil quínico; **(3)** ácido *O*-*p*-cumaroil quínico; **(4)** não identificado **(5)** ácido 3,5-di-*O*-cafeoil quínico e **(6)** não identificado. As setas (↓) indicam composto não detectável.

Aos 12 dias de conservação, dependendo da condição em que as cenouras tipo bastão foram expostas, tiveram alguns ácidos fenólicos não detectados (Figura 5; Tabela 2). Como por exemplo, condições de conservação em que o filme B foi utilizado, independente do revestimento comestível, os compostos 2, 4 e 6 não foram detectados, indicando que esses compostos não foram acumulados nessas condições (Figura 5; Tabela 2). O composto 4, parece ser o único composto sintetizado *de novo*, apenas na condição em que cenoura-bastão não receberam revestimento e mantidas em Filme A (Figura 5). Além disso, os maiores níveis de ácidos fenólicos foram encontrados, aos 12 dias, quando as cenouras-bastão receberam revestimento comestível e foram conservadas em filme A (Figura 5; Tabela 2).

**Tabela 3.** Conteúdo de ácidos fenólicos em tecido superficial (2,5 mm) do floema secundário de cenoura-bastão previamente imersas em suspensão de revestimento comestível, embaladas em dois filmes e conservadas a 4 °C.

Dias	Tratamentos	Ácidos Fenólicos <sup>a</sup> , µg 100g <sup>-1</sup> MF					
		<i>t</i> -ACQ	<i>c</i> -ACQ	ACoQ	ni <sup>b</sup>	di-ACQ	ni <sup>b</sup>
0	Revestimento (+)	40 ± 2,2	21 ± 0,9	13 ± 4,0	nq <sup>c</sup>	36 ± 3,0	42 ± 1,4
	Revestimento (-)	46 ± 3,3	23 ± 2,2 <sup>c</sup>	14 ± 3,0	nq <sup>c</sup>	37 ± 4,0	43 ± 2,0
4	- Revestimento + Filme A	38 ± 2,0	nq <sup>c</sup>	33 ± 1,2	24 ± 0,6	nq <sup>c</sup>	nq <sup>c</sup>
	- Revestimento + Filme B	18 ± 0,2	nq <sup>c</sup>	19 ± 0,2	34 ± 0,4	29 ± 0,6	29 ± 1,4
	+ Revestimento + Filme A	70 ± 1,1	18 ± 0,4	112 ± 1,1	85 ± 2,0	21 ± 0,3	25 ± 1,1
	+ Revestimento + Filme B	35 ± 2,2	nq <sup>c</sup>	47 ± 4,0	48 ± 4,0	18 ± 2,1	nq <sup>c</sup>
8	- Revestimento + Filme A	41 ± 0,7	nq <sup>c</sup>	58 ± 1,9	28 ± 5,5	nq <sup>c</sup>	nq <sup>c</sup>
	- Revestimento + Filme B	30 ± 0,9	nq <sup>c</sup>	27 ± 1,3	23 ± 6,0	nq <sup>c</sup>	nq <sup>c</sup>
	+ Revestimento + Filme A	82 ± 2,0	71 ± 0,4	39 ± 0,2	26 ± 1,0	26 ± 8,0	nq <sup>c</sup>
	+ Revestimento + Filme B	22 ± 0,4	nq <sup>c</sup>	31 ± 0,2	27 ± 2,0	nq <sup>c</sup>	nq <sup>c</sup>
12	- Revestimento + Filme A	205 ± 0,9	nq <sup>c</sup>	45 ± 0,9	nq <sup>c</sup>	33 ± 2,0	34 ± 1,4
	- Revestimento + Filme B	93 ± 2,4	nq <sup>c</sup>	21 ± 0,6	nq <sup>c</sup>	25 ± 5,9	nq <sup>c</sup>
	+ Revestimento + Filme A	182 ± 6,0	274 ± 6,0	95 ± 0,2	29 ± 2,0	30 ± 1,7	28 ± 3,1
	+ Revestimento + Filme B	45 ± 1,0	nq <sup>c</sup>	40 ± 1,6	nq <sup>c</sup>	nq <sup>c</sup>	nq <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Os dados foram obtidos de médias de três determinações sob base peso fresco (MF); <sup>b</sup>ni, não identificado. (*t*-ACQ) ácido 5-*O*-*trans*-cafeoil quínico; (*c*-ACQ) ácido 5-*O*-*cis*-cafeoil quínico; (ACoQ) ácido *O*-*p*-cumaroil quínico ; (di-ACQ) ácido 3,5-di-*O*-cafeoil quínico e (nq<sup>c</sup>) não quantificado.

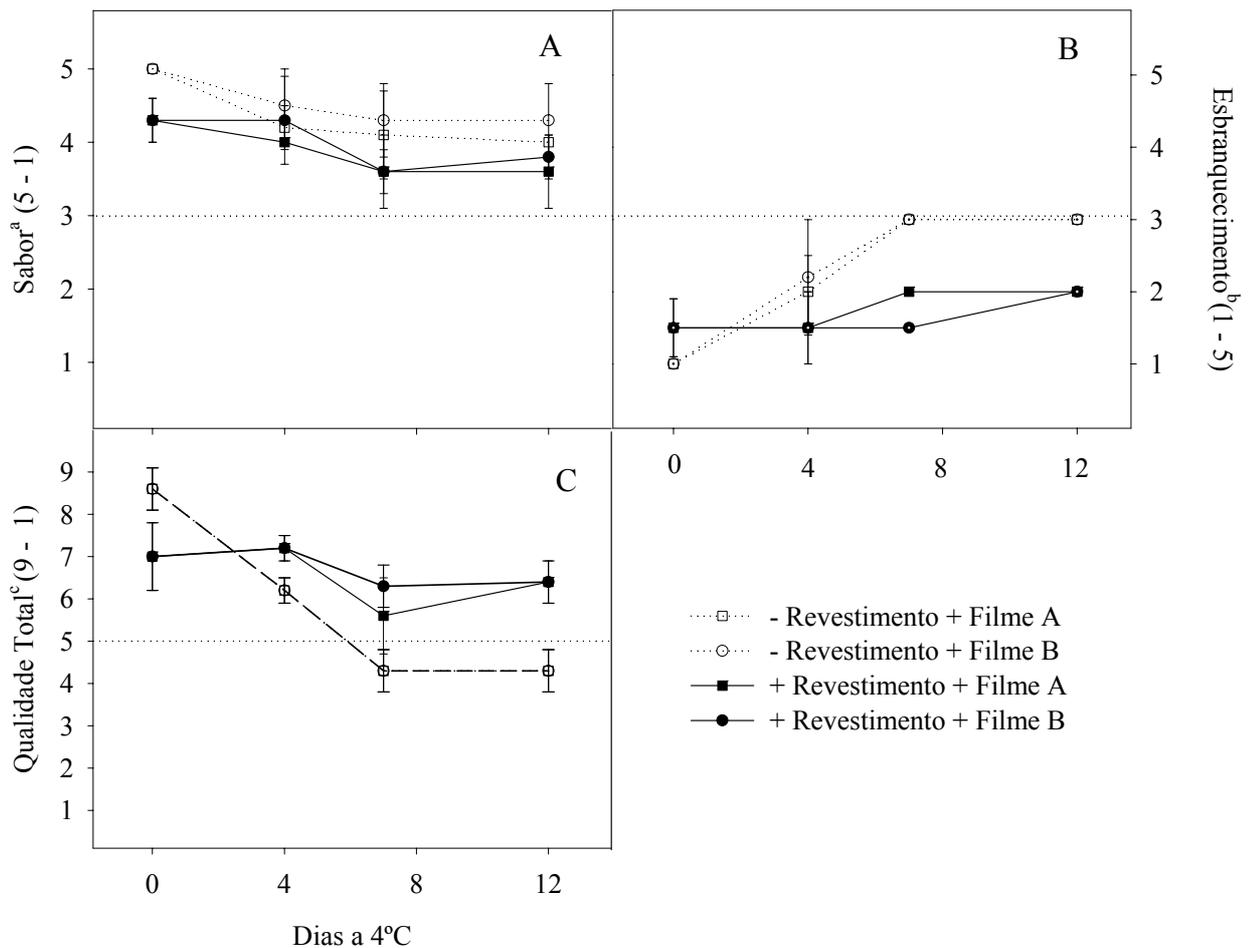
### **3.5. Avaliação sensorial**

Na avaliação do sabor, as cenouras tipo bastão apresentaram pouca alteração no sabor, resultando em notas acima de três (Figura 6A).

O maior contribuinte para a qualidade de cenoura-bastão foi à aparência, influenciada pelo esbranquecimento na superfície. Esses sintomas ocorreram intensamente quando cenouras bastão não tinham revestimento comestível, e pouca alteração na cor foi visto para cenouras com revestimento (Figura 6B; Figura 7).

A maior contribuição para perda de qualidade total foi devido à aparência, e apenas as cenouras-bastão que não receberam o revestimento, aos oito dias, apresentaram, em média, notas igual ou inferior a 5, que foi caracterizado como não aceitável e indesejável para comercialização (Figura 6C; Figura 7).

Confirmou-se, com esses resultados, a grande contribuição do esbranquecimento na qualidade de cenoura minimamente processada, e a importância do revestimento comestível para a manutenção da qualidade total como também verificado por vários autores (Howard e Dewi, 1996; Howard et al., 1994; Cisneros-Zevallos et al., 1997).



**Figura 6.** Sabor (A), esbranquecimento (B), e qualidade total (C), atribuídos por um painel sensorial para cenoura-bastão, com ou sem revestimento comestível, embaladas em dois filmes e conservadas a 4 °C.

<sup>a</sup>5 = doce, 3 = não doce/limite de aceitação e 1 = amargo;

<sup>b</sup>1 = superfície não esbranquecida/superfície cor laranja; 2 = 1 a 15 % da área superficial esbranquecida, iniciando nas extremidades, mas não comprometendo a qualidade; 2,5 = 16 a 50 %, esbranquecimento moderado; 3 = 51 a 70 % esbranquecimento avançado, limite de aceitação; 4 = 71 a 80 % esbranquecimento severo; 5 = 81 a 100 % extremamente esbranquecido;

<sup>c</sup>9 = excelente, extremamente aceitável, 5 = pouco agradável, limite inferior de aceitação pelo consumidor, e 1 = extremamente desagradável, não caracterizando o produto fresco.



**Figura 7.** Aparência de cenoura tipo bastão aos oito dias de conservação a 4 °C, período em que as que não receberam revestimento, não atingiram qualidade de comercialização. Cenouras tipo bastão sem revestimento comestível, embaladas com filme A (- Revestimento + Filme A); sem revestimento comestível, embalada com filme B (- Revestimento + Filme B); com revestimento comestível, embaladas com filme A (+ Revestimento + Filme A); com revestimento comestível, embalada com filme B (+ Revestimento + Filme B).

Em geral, os estudos com revestimento comestível contendo quitosana em frutos, o sabor e o aroma são os atributos mais importantes (Bautista-Baños et al., 2006), diferentemente do que aconteceu no presente trabalho, em que a aparência foi o fator determinante para qualidade. Além disso, há resultados de painéis sensoriais contraditórios, como por exemplo, nos trabalhos de Li e Chung (1986) e Kittur et al. (2001), em que a aplicação de revestimento com quitosana manteve frutos de manga e morango com qualidade sensorial superior aos frutos não tratados ao final da conservação. Por outro lado, Devlieghe et al. (2004) encontraram que o revestimento a base de quitosana proporcionou sabor amargo em morango e alface ao final da conservação refrigerada.

No presente trabalho, não foi perceptível, pelo painel sensorial, a detecção de sabor amargo (Figura 3A), embora se saiba que há uma relação inversa entre amargor e pH da suspensão contendo quitosana (Rodríguez et al., 2003). Talvez, não foi perceptível essa detecção devido o pH da suspensão encontrou-se entre 5 e 6, condição em que pouco se percebeu o amargor (Rodríguez et al., 2003).

### **3.6. Avaliação microbiológica**

De modo geral, não foram observadas diferenças entre os tratamentos avaliados para todos os grupos de microorganismos estudados (Tabela 4). Além disso, os níveis encontrados sempre foram abaixo de  $10^2$  UFC  $g^{-1}$ , para bactérias lácteas, coliformes fecais, fungos e leveduras e inferior a  $10^3$  UFC  $g^{-1}$ , para mesófilos totais. Em muitos casos, as contagens não chegaram a uma ou duas unidades logarítmicas, representando os resultados como  $< 1$  ou  $< 2$ . (Tabela 4). Isso indica que os níveis de contaminação foram baixos, provavelmente devido a matéria-prima com baixos níveis iniciais de contaminação, associado a um rigoroso manuseio durante o processamento mínimo, respeitando as boas práticas de higiene e de fabricação. Talvez por isso, que o revestimento, não teve sua contribuição esperada na redução da carga microbiana, como visto em outros trabalhos (Reddy et al., 2000; Durango et al., 2006; Botrel et al., 2007).

Nesse estudo, verificou-se que aos oito e doze dias de conservação, cenouras-bastão que receberam revestimento e foram mantidas na embalagem com filme B, apresentaram maiores contagens de bactérias ácido-láticas (Tabela 4). Isso pode ser consequência dos altos níveis de  $CO_2$  e baixos de  $O_2$  em que as cenouras bastão estavam submetidas

**Tabela 4.** Bactérias ácido lácticas, mesófilos aeróbicos totais, coliformes termotolerantes, fungos filamentosos e leveduras em cenoura-bastão com ou sem revestimento comestível, embaladas em dois filmes e conservadas a 4 °C.

Dias	Tratamentos	log10 Unidade Formadora de Colônia (UFC) g <sup>-1</sup> MF <sup>a</sup>			
		bactérias ácido lácticas	mesófilos aeróbicos totais	coliformes termotolerantes	fungos filamentosos e leveduras
0	- Revestimento + Filme A	< 1	<2	<1	<2
	- Revestimento + Filme B	< 1	<2	<1	<2
	+ Revestimento + Filme A	< 1	<2	<1	<2
	+ Revestimento + Filme B	< 1	<2	<1	<2
4	- Revestimento + Filme A	1,4 ± 0,3	2,6 ± 0,3	<1	<1
	- Revestimento + Filme B	1,5 ± 0,4	2,3 ± 0,6	<1	<1
	+ Revestimento + Filme A	1,2 ± 0,3	2,0 ± 0,7	<1	<1
	+ Revestimento + Filme B	1,3 ± 0,4	2,6 ± 0,4	<1	<1
8	- Revestimento + Filme A	1,3 ± 0,4	3,8 ± 0,2	<1	1,1 ± 0,2
	- Revestimento + Filme B	1,3 ± 0,4	3,2 ± 0,1	<1	1,2 ± 0,4
	+ Revestimento + Filme A	1,0 ± 0,1	2,5 ± 0,3	<1	1,0 ± 0,1
	+ Revestimento + Filme B	2,4 ± 0,5	2,9 ± 0,4	<1	1,0 ± 0,1
12	- Revestimento + Filme A	<1	2,8 ± 0,5	<1	1,5 ± 0,5
	- Revestimento + Filme B	<1	3,0 ± 0,3	<1	1,5 ± 0,6
	+ Revestimento + Filme A	<1	2,9 ± 0,3	<1	1,3 ± 0,5
	+ Revestimento + Filme B	1,3 ± 0,4	3,0 ± 0,4	<1	0,9 ± 0,1

<sup>a</sup> Os dados foram obtidos de médias de três determinações sob base peso fresco (MF).

(Carlin et al., 1990), comprovando o risco em manter cenouras minimamente processadas em atmosfera com reduzidos níveis de O<sub>2</sub> ou elevados de CO<sub>2</sub>, mesmo em presença de recobrimento comestível.

Logo, verificou-se com esses resultados, que cenouras bastão, com revestimento comestível, apresentaram alterações em alguns componentes fitoquímicos, como ácido ascórbico, dehidroascórbico, carotenóides totais e principalmente compostos fenólicos. Mas, a associação com a conservação em atmosfera modificada por O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> essas alterações podem ser minimizadas.

Foi comprovada a eficiência do revestimento comestível estudado, nos parâmetros sensoriais. O revestimento utilizado, embora tenha alcançado benefícios para a aceitação e comercialização de cenouras minimamente processadas, a tecnologia de secagem pode tornar-se um entrave para seu uso em indústria de processamento mínimo. Isso porque foi duradouro o seu processo de secagem, entre 2 a 2,5 hora. Logo é necessária continuação de estudos a fim de maximizar a eficiência na secagem. Outros trabalhos foram realizados pelo mesmo grupo, para minimizar esse tempo, modificando concentrações de alguns componentes do revestimento (Simões et al., 2007), porém, ainda assim, é necessário reduzir o tempo de secagem desse recobrimento, para minimizar os estresses em decorrência do manuseio no processamento mínimo.

#### **4. CONCLUSÕES**

A imersão de cenouras tipo bastão em suspensão de revestimento comestível, associado à secagem, resultou em incrementos na taxa respiratória durante a conservação de cenoura-bastão em atmosfera ambiente.

O esbranquecimento foi o principal responsável pela perda de qualidade total das cenouras bastão. O recobrimento comestível contendo amido e quitosana como antimicrobiano, associado à atmosfera modificada, com o filme de maior permeabilidade a O<sub>2</sub>, mantiveram qualidade do ponto de vista sensorial e microbiológico por 12 dias de conservação a 4 °C, mesmo que tenham ocorrido algumas mudanças nos componentes fotoquímicos estudados.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

A desidratação e as alterações estruturais das camadas de células mais superficiais são os principais causadores do esbranquecimento em minicenouras, que não está relacionado ao acúmulo de lignina ou suberina. Além disso, sucessivas reidratações podem ou não reverter o esbranquecimento na superfície de minicenouras, dependendo do grau de desidratação sofrido e, conseqüentemente, da perda de matéria fresca.

O aumento na atividade da FAL na região superficial não está relacionada à síntese de lignina, mas ao acúmulo de compostos fenólicos não-estruturais.

A atmosfera composta por 5 % O<sub>2</sub> + 5 % CO<sub>2</sub> foi a mais adequada para a conservação de minicenoura, ao longo de 12 dias, embora não tenha sido suficiente para minimizar o esbranquecimento na superfície de minicenoura, perceptível a partir do quarto dia. O revestimento comestível contendo amido e quitosana como antimicrobiano, associado à atmosfera modificada, manteve a cor laranja original na superfície de cenouras tipo bastão sem causar sabor estranho, como amargor, mantendo a qualidade microbiológica ao longo de 12 dias de conservação a 4 °C, mesmo tendo ocorrido alterações no acúmulo de ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico, luteína,  $\alpha$  e  $\beta$  carotenos e alguns ácidos fenólicos, com predominância do ácido clorogênico.

## 6. REFERÊNCIAS

Ari, Y.; Watanabe, S.; Kimira, M. Simio, K.; Mochizuki, R. e Kinae, N., 2000. Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by japaneses women and the inverse correlation between quercitin intake and plasma LDL cholesterol. J. Nutr., v.130, p.1349-1355.

Arruda, 2005. Qualidade de cenouras (*Daucus carota* L.) orgânica e convencional minimamente processada. Tese de Mestrado.(Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 72p. Viçosa, MG. Brasil.

Avena-Bustillos, R. J., Cisneros-Zevallos, L. A., Krochta, J. M., Saltveit, M. E. 1994. Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. Post. Biol. Technol., 4: 319-329.

Babic, I.; Amiot, M. J.; Nguyen-the, C.; Aubert, S., 1993. Changes in phenolics content in fresh ready-to-use shredded carrots during storage. J. Food Sci., 58: 351-356.

Bautista-Baños, S.; Fernández-Lauzardo, A. N.; Velásquez-del Valle, M. G.; Hernández-Lopez, M.; Ait Barka, E.; Bosquez-Molina, E.; Wilson, C. L. 2006. Chitosan as a potencial natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop Protection, 25: 108-118.

Bevan, M. Shufflebottom, D., Edwards, K., Jefferson, R., Schuch, W. 1989. Tissue- and cell-specific activity of a phenylalanine ammonia-lyase promoter in transgenic plants. EMBO J., 8 (7): 1899-1906.

Botrel, D. A.; Soaes, N. F. F.; Geraldine, R. M.; Pereira, R. M.;Fontes, E. A. F. 2007. Qualidade de alho (*Allium sativum*) minimamente processado envolvido com revestimento comestível antimicrobiano. Ciênc. Tecnol. Aliment., 27(1): 32-38.

- Carlin, F.; Nguyen-the, C.; Chambroy, Y. and Reich, M. 1990. Effects controlled atmospheres on microbial spoilage, electrolyte leakage and sugar content of fresh 'ready-to-use' grated carrots. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 25: 110-119.
- Czepa, A. and Hofmann, T. Structural and sensory characterization of compounds contributing to the bitter off-taste of carrots (*Daucus carota* L.) and carrot puree. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 3865-3873.
- Cisneros-Zevallos, L.; Saltveit, M. E.; Krochta, J. M. 1997. Hygroscopic coatings control surface white discoloration of peeled (Minimally Processed) carrots during storage. *J. Food Science.*, 62(2): 363-366.
- Creasy, L. L. 1976. Phenylalanine ammonia lyase-inactivating system in sunflower leaves. *Phytochemistry*, 15: 673-675.
- Devlieghere, F.; Vermeulen, A.; Debevere, J. 2004. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiol.* 21: 703-714.
- Durango, A. M.; Soares, N. F. F.; Andrade, N. J. 2006. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. *Food Control*, v.17, p.336-341.
- El Ghaouth, A.; Arual, J.; Grenier, J.; Asselin, A. 1992. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. *Phytopathology*, Saint Paul, 82: 398-402.
- Guilbert, S., 1986; Technology and application of edible protective films. In: "Food Packaging and Preservation. Theory and Practice", ed. M. Mathlouthi, p. 371. Elsevier Applied Science Publishing Co., London England.
- Henrique, C. M.; Evangelista, R. M. 2006. Processamento mínimo de cenouras orgânicas com uso de películas biodegradáveis. *Publ. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.*, Ponta Grossa, 12 (3): 7-14.
- Hirano, S. 1996. Chitin Biotechnology applications. *Biotech. Ann. Rev.*, Amsterdam, 2: 237-258.

- Howard, L. R., Griffin, L. E., Lee, Y. 1994. Steam treatment of minimally processed carrots sticks to control surface discoloration. *J. Food Sci.*, 59(2): 356-358.
- Howard, L. R. and Dewi, T. 1996. Minimal processing and edible coating effects on composition and sensory quality of mini-peeled carrots. *J. Food Science.*, 61(3): 643-6455.
- Inbar, M.; Doostdar, H.; Sonoda, R. M.; Leibe, G. L.; Mayer, R. T. 1998. Elicitors of plant defensive systems reduce insect densities and disease incidence. *J. Chemical Ecology*, 24 (1): 135-149.
- Jagannath, J. H.; Nanjappa, D. D. G.; Awa, A. S. 2006. Studies on the stability of an edible film and its use for the preservation of carrot (*Daucus carota*). *International J. Food Sci. Technol.*, 41:498-506.
- Kester, J. J. E; Fennema, O. R., 1986. Edible films and coating: a review. *Food Technol.*, 12:47-59.
- Klaiber, R. G.; Baur, S.; Wolf, G.; Hammes, W. P.; Carle, R., 2005a. Quality of minimally processed carrots as affected by warm water washing and chlorination. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6: 351-362.
- Klaiber, R. G.; Baur, S.; Koblo, A.; Carle, R., 2005b. Influence of washing treatment and storage atmosphere on phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic acid content of minimally processed carrots sticks. *J. Agric. Food Chemistry.*, 53: 1065–1072.
- Labanca, E. R. G. 2002. Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis ativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*). Dissertação de Mestrado - Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 107p. Piracicaba, SP: Brasil.
- Lapdot, T.; Harel, S.; Granit, R.; Kanner, J., 1998. Bioavailability of red wines anthocyanins as detected in human urine. *J. Agric. Food Chem.*, 46:4297-4302.
- Li, P.; Barth, M. M. 1998. Impact of edible coating on nutritional and physiological changes in lightly-processed carrots. *Postharvest Biol. Technol.* 14: 51-60.

- Mali, S.; Grossmann, M. V. E.; García, M. A.; Martins, M. N.; e Zaritzky, N. E. 2002. Microstructural characterization of yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, 50, 379 – 386.
- Mazaro, S. M. 2007. Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores. Tese (Doutorado em Agronomia) – Univerisade Federal do Paraná, 87p. Curitiba, PR, Brasil.
- Mei, Y.; Zhao, I.; Furr, H. C. 2002. Using edible coating to enhance nutritional and sensory quality of baby carrots. *J. Food Sci.*, 67 (5): 1964-1968.
- Moretti, C. L.; Teixeira, J. M. A.; Mattos, L. M.; Minim, V. P. R.; Vieira, J. V.; Kluge, R. A.; Jacomino, A. P. 2003. Mini cenouras tratadas com recobrimento comestível tem esbranquiçamento reducido. In: Congresso Brasileiro de Olericultura. Horticultura Brasileira – Suplemento CD., 21 (2).
- Olthof M. R.; Hollman, P. C. H. E; Katan, M. B., 2001. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J. Nutr.*, 131:66-71.
- Podsdek, A. 2007. Natural antioxidants and capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT.*, 40: 1-11.
- Puschmann R.; Simões, A. N.; Moreira, S. I.; Soares, N. de F. F.; Carnelossi, M. A. G.; Gil, M. I. 2007. Calidad y actividad de la Fenilalanina amonioliase (PAL) en minizanahoría con recubrimiento comestible antimicrobiano. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, Murcia, España.
- Reddy, M. V. B.; Belkacemi, K.; Corcuff, R.; Castaigne, F.; Arul, J. 2000. Effect of preharvest chitosan sprays in post-harvest infections by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. *Post. Biol. Technol.*, Amsterdam, 20: 39-51.
- Ritenour, M. A. e Saltveit, M. E. 1996. Identification of a phenylalanine ammonia-lyase inactivating factor in harvested head lettuce (*Lactuca sativa*). *Physiol. Plant.* 97: 327-331.
- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Venere, Di., Salerno, M. 2002. Effects of Pre- and postharvest chitosan treatments to control storage gray mold of table grapes. *J. Food Sci.* 67: 1862–1867.

Silva, V. A. 2003. Fisiologia de Cenoura Minimamente Processada. Tese (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – UFV, 78 p. Viçosa, MG, Brasil.

Soares, N. F. F. 2002. Efeito de embalagens na conservação de produtos minimamente processados. Seminário Internacional de Pós-Colheita e Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças.

Surjadinata, B. B.; Cisneros-Zevallos, L. 2003. Modeling wound-induced respiration of fresh-cut carrots (*Daucus carota* L.) J. Food Sci. 68:9; 2735-2740.

Talcott, S. T.; Howard, L. R.; Brenes, C. H. 2001. Factors contributing to taste and quality of commercially processed strained carrots. Food Res. Int. 34: 31-38.

Terry, L. A.; Joyce, D.C. 2004. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. Postharvest Biology and Technology, Amsterdam. 32: 1-13.

Tomás-Barberán, F. A.; Gil, M. I.; Castañer M.; Artés, F. y Saltveit, M. E., 1997. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce J. Agric. Food Chem., 45: 583-589.

Vargas, M.; Albors, A.; Chiralt, A.; González-Martínez, C. 2006. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. Postharvest Biol. and Technol. 41:164-171.

Zang, D.; Quantick, P. C. 1997. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of lichi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. Post Biol. and Technol. 12: 195-202.

Zhang, D., Quantick, P.C., 1998. Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. J. Hort. Sci. Biotechnol. 73, 763–767.

Zhu M., Chu C. L, Wang S. L, Lencki R. W. 2001. Influence of oxygen, carbon dioxide, and degree of cutting on the respiration rate of rutabaga. J Food Sci., 66 (1): 30–7.