

TECNOLOGIA DE PÓS-COLHEITA

AVALIAÇÃO DE BIORREGULADORES NO METABOLISMO SECUNDÁRIO DE BETERRABAS INTEIRAS E MINIMAMENTE PROCESSADAS (1)

ANDRESSA ARAUJO PICOLI (2); DANIELE BEZERRA FARIA(3); MARIA LUIZA LYE JOMORI(4); RICARDO ALFREDO KLUGE (5*)

RESUMO

O objetivo do trabalho foi verificar o efeito de biorreguladores em beterrabas minimamente processadas e inteiras (não processadas) sobre alguns aspectos do metabolismo secundário. Para o processamento mínimo, as beterrabas foram descascadas, sanificadas, sendo em seguida cortadas em retalhos com 2 mm de espessura, enxaguadas e centrifugadas. Nas beterrabas inteiras foram somente retiradas as folhas e os talos e sanificadas. Os tratamentos aplicados foram: etileno 1000 mL L⁻¹, 1-metilciclopropeno (1-MCP) 300 nL L⁻¹ e ácido salicílico 500 mg L⁻¹. Após os tratamentos, as beterrabas foram embaladas e armazenadas a 5 °C durante 10 dias. As injúrias causadas durante o processamento mínimo induziram o aumento na atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) nos tratamentos com etileno e 1-MCP e também o controle. A aplicação de ácido salicílico diminuiu a atividade desta enzima. Os tratamentos aplicados nas beterrabas minimamente processadas e inteiras não influenciaram a concentração de fenóis totais e de betalaínas, mas o teor de betalaínas foi reduzido em mais de 50% em beterraba minimamente processada em comparação com a beterraba inteira.

Palavras-chave: *Beta vulgaris*, compostos fenólicos, betalaínas, PAL.

ABSTRACT

EVALUATION OF BIOREGULATORS ON SECONDARY METABOLISM OF WHOLE AND MINIMALLY PROCESSED BEET ROOT

The objective of this work was to evaluate the effects of bioregulators on some aspects of secondary metabolism of minimally processed and whole (without processing) beet roots. For the minimal processing, beet roots were peeled, sanitized, shredded (2 mm thick), rinsed and centrifuged. For whole beet roots, both leaves and stems were removed, and after the product was sanitized. The following treatments were applied: ethylene (1000 mL L⁻¹), 1-MCP (300 nL L⁻¹) and salicylic acid (500 mg L⁻¹). After treatments, beet roots were packed and stored at 5 °C during 10 days. Injuries that occurred during the minimal processing induced an increase of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity in ethylene, 1-MCP and control treatments. However, salicylic acid decreased the activity of this enzyme. The treatments applied on whole and minimally processed beet roots did not have influence in total phenol and betalains concentration; however the betalains content was more than 50% lower in beet root minimally processed if compared to whole root.

Key words: *Beta vulgaris*, phenolic compound, betalains, PAL.

(1) Recebido para publicação em 29 de agosto de 2008 e aceito em 8 de abril de 2010.

(2) Mestranda da Universidade de São Paulo (USP), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Departamento de Ciências Biológicas, Caixa Postal 9, 13418-900 Piracicaba (SP).

(3) Graduanda da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba (SP).

(4) Doutoranda da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba (SP).

(5) Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP. E-mail: rakluge@esalq.usp.br (*) Autor correspondente.

1. INTRODUÇÃO

O processamento mínimo usualmente descreve um produto fresco, adequadamente descascado, fatiado ou cortado, pronto para consumo ou preparo, contrastando com as técnicas de processamento convencional, a qual inclui o branqueamento, o congelamento, o enlatamento e a secagem, entre outros (CANTWELL e SUSLOW, 1992; WILEY, 1994). A durabilidade deste tipo de produto é baixa se comparada com o produto inteiro, considerando que na superfície do corte, as células e as membranas celulares são destruídas ocorrendo modificação no metabolismo celular. Dentre as principais alterações decorrentes do processamento mínimo está o aumento da respiração e da produção de etileno, o que invariavelmente contribui para a redução da vida de prateleira destes produtos (SALTVEIT, 2003).

O estímulo à produção de etileno tem entre outras consequências a ativação do metabolismo fenilpropanóide dos vegetais, em função principalmente do aumento da atividade de enzimas deste metabolismo, sobretudo da fenilalanina amônia-liase (PAL, EC 4.3.1.25). A PAL está situada em um ponto de ramificação entre os metabolismos primário e secundário, de forma que a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante da formação de muitos compostos fenólicos (CHALUTZ, 1973).

Ainda não se sabe com certeza se o etileno é o sinal primário para a indução do metabolismo fenólico nos tecidos vegetais. Assim, o bloqueio de sua produção ou ação pode fornecer subsídios para responder esta questão. O etileno pode ter sua ação bloqueada pela aplicação do 1-metilciclopropeno (1-MCP) (SISLER e SEREK, 1997). O 1-MCP representa a capacidade de evitar os efeitos relativos ao etileno, sendo usado para retardar a maturação de frutas e a senescência de hortaliças e flores (BLANKENSHIP e DOLE, 2003). A produção de etileno, por sua vez, pode ser reduzida com a aplicação de ácido salicílico, que inibe a ácido 1-carboxílico 1-aminociclopropano (ACC) oxidase (ACCO, E.C. 1.4.3), a enzima formadora do etileno (JUN et al., 1999). O ácido salicílico é um hormônio natural, do grupo dos compostos fenólicos, envolvido na regulação de muitos processos de crescimento e desenvolvimento de plantas, incluindo o amadurecimento e a senescência, além de participar ativamente da resistência sistêmica a patógenos vegetais (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Várias substâncias são produzidas durante o metabolismo secundário de frutas e hortaliças, incluindo grande número de compostos fenólicos, tais como lignina, flavonóides, compostos de defesa contra herbivoria e patógenos, entre outros.

Tem sido verificado que muitos dos compostos secundários são benéficos à saúde humana, como por

exemplo, as betalaínas, que são pigmentos encontrados na beterraba e pertencentes ao grupo dos compostos secundários nitrogenados. As betalaínas têm sido relatadas como potentes agentes antioxidantes, podendo ser utilizadas para prevenir alguns tipos de cânceres (KANNER et al., 2001). Considerando a importância antioxidante destes pigmentos na dieta alimentar (KANNER et al., 2001) tornam-se importantes os estudos referentes à técnicas para a sua preservação.

Em produtos minimamente processados pouco se conhece sobre as alterações no metabolismo secundário decorrentes da injúria do processamento, e os estudos relativos à atividade da PAL e metabolismo de fenóis e betalaínas podem contribuir para melhor caracterização nutricional destes alimentos bem como para o desenvolvimento de técnicas de pós-colheita que permitam a manutenção das qualidades nutricionais. Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito de biorreguladores em beterrabas minimamente processadas e inteiras nos teores de betalaínas e fenóis, além da atividade da PAL, durante o armazenamento refrigerado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Beterrabas cv. Early Wonder, colhidas na região de São José do Rio Preto (SP), 20° 49' S, 49° 22' W, foram selecionadas quanto ao tamanho e à ausência de injúrias mecânicas e patológicas. As beterrabas foram pré-lavadas em água corrente com o objetivo de retirar as impurezas advindas do campo, retirando-se também os talos e as folhas. A seguir, o material foi separado em dois lotes; um deles foi minimamente processado e o outro permaneceu inteiro. Foi considerada beterraba inteira aquela da qual foram apenas retirados os talos e as folhas, sem outra alteração física.

O preparo do produto minimamente processado seguiu o mesmo fluxograma de VITTI et al. (2004). O processamento ocorreu dentro da câmara a 10 °C sobre mesa de aço inoxidável devidamente higienizada com cloro ativo 200 ppm. Os operadores utilizaram botas, aventais, luvas, máscaras e toucas. Inicialmente, o produto foi imerso em água a 5 °C por 2 minutos, para reduzir a atividade metabólica antes do processamento. A seguir, as beterrabas foram submetidas ao descascamento mecânico em descascadora industrial *Skymesen* com disco abrasivo para a retirada da película externa das raízes. As raízes foram sanificadas por 3 minutos com água clorada contendo 200 ppm de cloro ativo, com o objetivo de reduzir a contaminação microbiana. Posteriormente, foram submetidas à etapa de corte em forma de retalhos com 2 mm de espessura, utilizando-se processadora industrial *Robot Coupe*. Após essa etapa, o produto foi enxaguado em água com 3 ppm de cloro ativo por 1 minuto para a retirada do

excesso de cloro. Em seguida, foram centrifugadas a 800 xg em centrífuga doméstica durante 20 segundos para a retirada do excesso de umidade.

Os tratamentos aplicados tanto nas beterrabas minimamente processadas quanto inteiras foram: etileno, 1-MCP e ácido salicílico, além do controle. Para cada tratamento utilizaram-se quatro repetições de 200 g de amostra.

Para a aplicação de etileno, as beterrabas foram colocadas em caixas plásticas herméticas, com volume de 0,19 m³ durante 24 horas. O etileno 1000 mL L⁻¹ foi aplicado injetando-se gás azetil contendo 5% de etileno no interior da caixa hermética, através de um septo de silicone.

Para a aplicação de 1-MCP (300 nLL⁻¹), foi utilizado 0,089 g do produto comercial SmartFresh[®] dissolvido em 20 mL de água a 50°C em frasco hermético. Após completa dissolução do produto, o frasco foi aberto no interior da caixa plástica hermética para a liberação do gás. A duração deste tratamento foi de 12 horas.

O ácido salicílico foi aplicado na forma de imersão do produto, durante 5 minutos em uma solução contendo 500 mg L⁻¹ de ácido salicílico.

Todas as amostras, depois de tratadas, foram acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido, de dimensões 14x20 cm, envolvidas por filme de policloreto de vinila (PVC) e armazenados a 5±1 °C e 85±5% UR.

O período de armazenamento foi de 10 dias, e as avaliações realizadas a cada dois dias. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com quatro repetições, em esquema fatorial 4 x 6, em que os fatores estudados foram: tratamento (em quatro níveis) e tempo de armazenamento (em seis níveis).

As seguintes variáveis foram analisadas: a) fenóis totais: os fenóis totais foram determinados de acordo com o método descrito por SINGLETON e ROSSI (1965) utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu e empregando o ácido gálico para a curva padrão. Os resultados foram expressos em mg ácido gálico 100 g⁻¹; b) atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL): foi determinada pela técnica empregada por PEIXOTO (1999) e expressa como nmol ácido cinâmico mg⁻¹ de proteína h⁻¹; c) proteína: o método de BRADFORD (1976) foi empregado para quantificação do conteúdo total de proteínas das amostras; d) betalaínas: os teores de betalaínas (betacianina e betaxantina) foram determinados utilizando o método de NILSON (1970). Amostras de 2 g, previamente congeladas em nitrogênio líquido, foram maceradas com 5 mL de água destilada. A solução obtida foi centrifugada a 4 °C durante 40 minutos, empregando rotação de 6000 xg. Em tubo de ensaio, homogeneizaram-se 400 µL

do sobrenadante e 4 mL de água destilada, e foi lida a absorbância desta solução a 476 nm, 538 nm e 600 nm. Os resultados foram calculados através das seguintes fórmulas: $x = 1,095(a-c)$, $y = b-z-x/3,1$ e $z = a-x$, sendo: a = leitura da absorbância a 538 nm; b = leitura a 476 nm; c = leitura a 600 nm; x = absorbância de betacianina; y = absorbância de betaxantina; z = absorbância de impurezas. Os resultados foram expressos em mg de betalaínas 100 g⁻¹, resultante da soma do teor de betacianina e de betaxantina, pigmentos que compõem a cor característica da beterraba.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste da diferença mínima significativa ($p \leq 0,05$), cujas diferenças entre dois tratamentos maiores que a soma de dois erros-padrão são consideradas significativas (VITTI et al., 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de fenóis verificou-se que, comparativamente ao resultado inicial, houve pequena redução inicial para a beterraba minimamente processada, mantendo estáveis os valores ao longo do armazenamento, e pequena elevação para a beterraba inteira, sem diferença significativa entre os tratamentos aplicados. Os valores variaram de 42 a 60 mg ácido gálico 100 g⁻¹ para as beterrabas minimamente processadas (Figura 1a) e de 55 a 90 mg ácido gálico 100 g⁻¹ para as beterrabas inteiras (Figura 1b).

Estresses causados nos vegetais frescos podem afetar sua fisiologia por meio da indução do metabolismo fenilpropanóide (TOMÁS-BARBERÁN et al., 1997). Dessa forma, pode haver um incremento de compostos fenólicos e de outros compostos do metabolismo secundário (REYES et al., 2007). Além de injúrias mecânicas, outros fatores abióticos, como baixa temperatura, podem estimular a produção de fenóis (PADDA e PÍCHA, 2008). Conforme figura 1b, há elevação de fenóis em beterraba inteira no presente trabalho. Ficou evidenciado que a beterraba inteira possui maior quantidade de fenóis totais, provavelmente devido ao extravasamento dos compostos fenólicos em função do corte. Os fenóis têm localização vacuolar, e nos tecidos com injúrias mecânicas, normalmente, notam-se danos em membranas, sendo o tonoplasto (membrana que envolve o vacúolo) um dos sítios afetados, o que origina um vazamento de fenóis (SALTVEIT, 2003; TOIVONEN e BRUMMELL, 2008). Muitos destes fenóis são solúveis e, durante os processos de sanificação e enxágue, são perdidos. Assim, a perda de compartimentação celular, quando o corte, a sanificação e o enxágue foram realizados devem ter contribuído para que não aumentasse a quantidade de fenóis totais na beterraba minimamente processada, ao contrário do que ocorreu na inteira, em que a compartimentação foi mantida.

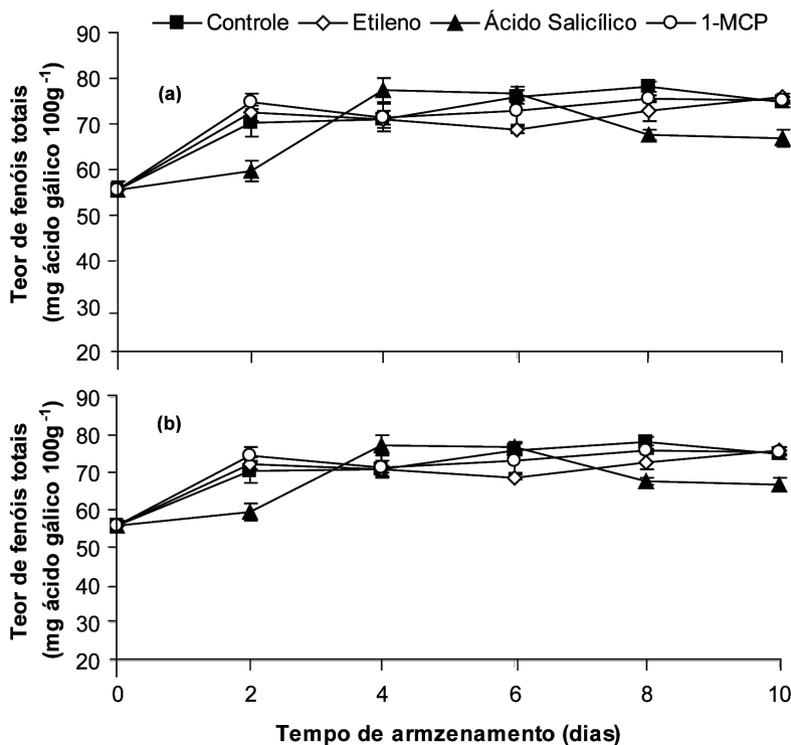


Figura 1. Teores de fenóis totais de beterrabas minimamente processadas (a) e inteiras (b), submetidas a tratamentos com biorreguladores e armazenadas durante 10 dias a 5 °C e 85% UR. Barras verticais representam o erro-padrão da média (n=4).

Para a beterraba minimamente processada, elevações na atividade da PAL foram observadas para os tratamentos controle, etileno e 1-MCP, no segundo dia de armazenamento, com pico na atividade no quarto dia e posterior declínio para níveis semelhantes aos observados no segundo dia (Figura 2a). Estas elevações podem ser oriundas do estresse do processamento. Segundo SALTVEIT (2000), os estresses, bióticos ou abióticos, podem estimular o metabolismo fenilpropanóide, e uma das respostas é a síntese *de novo* da PAL. Por outro lado, a aplicação de ácido salicílico em beterrabas minimamente processadas manteve baixa a atividade da PAL. O ácido salicílico é um composto fenólico natural que está envolvido em vários processos do crescimento e desenvolvimento da planta e pode também reduzir a concentração de radicais livres e diminuir a atividade de enzimas como a PAL (ZHANG et al., 2003). Outra hipótese seria que a aplicação de ácido salicílico proporciona queda na taxa respiratória, reduzindo a formação de fosfoenolpiruvato e de eritrose 4-fosfato, precursores da fenilalanina, substrato da PAL, e diminuindo a atividade desta enzima. CAI e CHEN (2006) relataram que o ácido acetilsalicílico, um derivado do ácido salicílico, diminuiu a atividade da PAL e da guaiacol-peroxidase (G-POD). Observou-se que os valores de atividade da PAL foram menores

nas beterrabas inteiras quando comparadas com as minimamente processadas (Figura 2), possivelmente devido a menor resposta em função da ausência de estresse mecânico (corte).

No presente trabalho, os tratamentos aplicados pouco influenciaram a concentração de betalaínas, considerando os valores avaliados (Figura 3). Os teores de betacianina em beterrabas minimamente processadas variaram entre 13 e 23 mg 100 g⁻¹ (Figura 3a) no decorrer do armazenamento. Nas beterrabas inteiras foram quantificados teores de betalaínas entre 30 e 48 mg 100 g⁻¹ (Figura 3b).

Assim, houve perda de mais de 50% dos pigmentos da beterraba minimamente processada, fato possivelmente associado ao extravasamento dos pigmentos durante o preparo do produto e/ou a processos degradativos dos pigmentos logo após o processamento mínimo e a perda por solubilização na lavagem. De fato, no fluxograma de preparo, os processos de sanificação e enxágue favorecem maior perda destes pigmentos devido ao contato da superfície das raízes com a água (VITTI et al., 2005).

Poucos estudos referentes aos teores de pigmentos em beterraba são constatados na literatura e menos ainda sobre formas de como prevenir as perdas destas substâncias no produto minimamente processado.

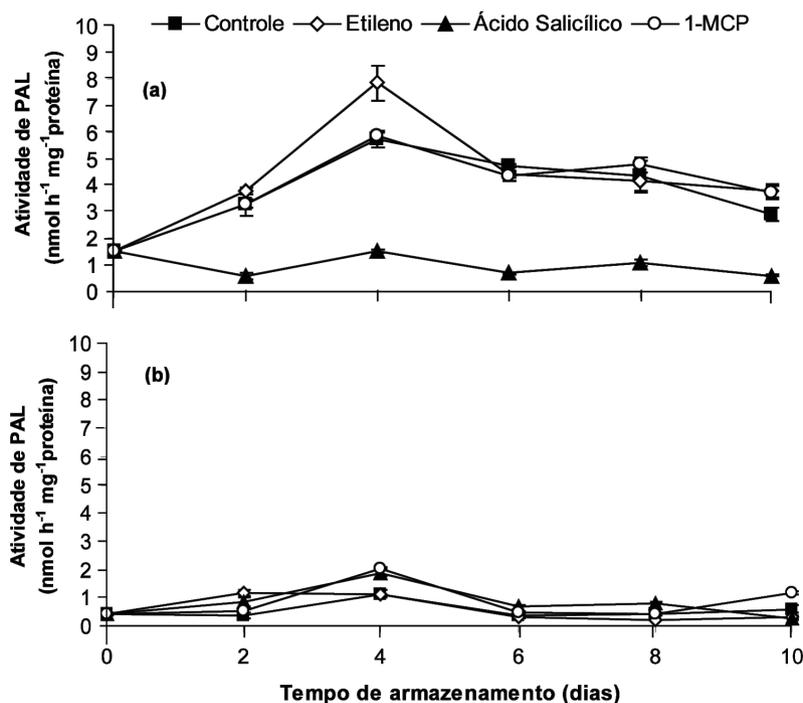


Figura 2. Atividade de PAL (fenilalanina amônia-liase) de beterrabas minimamente processadas (a) e inteiras (b), submetidas a tratamentos com biorreguladores e armazenadas durante 10 dias a 5 °C e 85% UR. Barras verticais representam o erro-padrão da média (n=4).

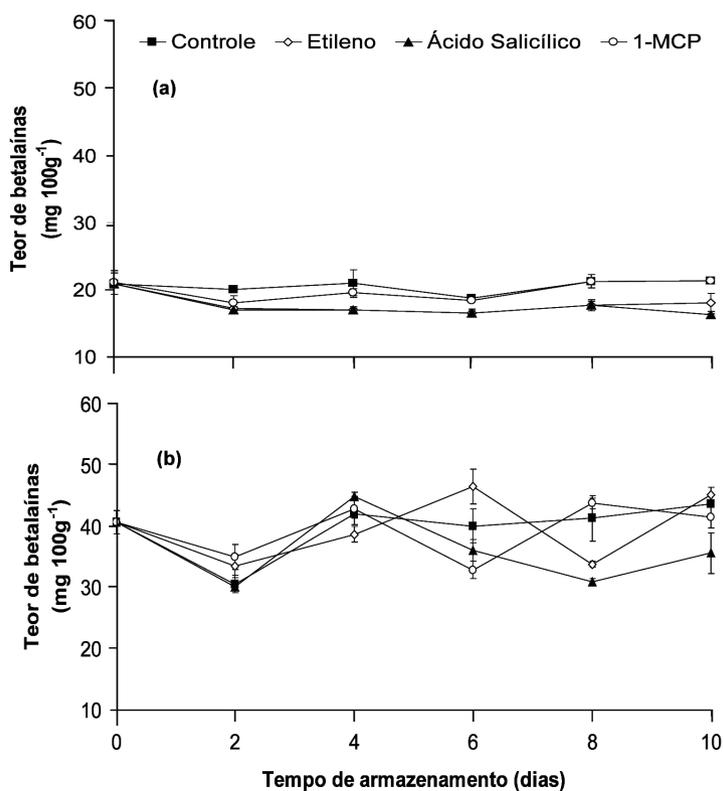


Figura 3. Teor de betalaínas de beterrabas minimamente processadas (a) e inteiras (b), submetidas a tratamentos com biorreguladores e armazenadas durante 10 dias a 5 °C e 85% UR. Barras verticais representam o erro-padrão da média (n=4).

4. CONCLUSÕES

1. O processamento mínimo de beterraba induz o aumento na atividade da fenilalanina amônia-liase, e a aplicação de ácido salicílico diminui a atividade desta enzima.

2. Os tratamentos com etileno (1000 mL L⁻¹), 1-MCP (300 nL L⁻¹) e ácido salicílico (500 mg L⁻¹) não influenciam os teores de betalainas e fenóis totais em beterraba minimamente processada, mas o processamento mínimo reduz em mais de 50% o teor de betalainas.

AGRADECIMENTOS

À Fapesp, pela concessão das bolsas de mestrado (proc. n° 2006/01881-7) e de iniciação científica, e pelo auxílio financeiro (proc. n° 2005/01863-6).

REFERÊNCIAS

- BLANKENSHIP, S.M.; DOLE, J.M. 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biology and Technology*, v.28, p.1-25, 2003.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, p.248-254, 1976.
- CAI, C.; LI, X.; CHEN, K. Acetylsalicylic acid alleviates chilling injury of postharvest loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. *European Food Research and Technology*, v.223, p.533-539, 2006.
- CANTWELL, M.I.; SUSLOW, T.V. Postharvest handling systems: fresh-cut fruits and vegetables. In: KADER, A.A. *Postharvest technology of horticultural crops*. Davis: University of California, 2002. p. 445-463.
- CHALUTZ, E. Ethylene-induced phenylalanine ammonia-lyase activity in carrot roots. *Plant Physiology*, v.51, p.1033-1036, 1973.
- JUN, P.G.; NISHIMURA, N.; KUBO, Y.; NAKAMURA, R.; INABA, A. Biosynthesis of trace-ethylene in some fruits. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, v.61, p.199-204, 1999.
- KANNER, J.; HAREL, S.; GRANIT, R. Betalains: a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, p.5178-5185, 2001.
- NILSON, T. Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.). *Lantbrukshogskolans Annaler*, v.36, p.179-219, 1970.
- PADDA, M.S.; PICHA, D.H. Effect of low temperature storage on phenolic composition and antioxidant activity of sweetpotatoes. *Postharvest Biology and Technology*, v.47, p.176-180, 2008.
- PEIXOTO, E.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.11, p.137-143, 1999.
- REYES, L.F.; VILLARREAL, J.E.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Food Chemistry*, v.101, p.1254-1262, 2007.
- SALTVEIT, M.E. Fresh-cut vegetables. In: BARTZ, J.A.; BRECHT, J.K. (Ed.). *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*. New York: Marcel Dekker, 2003. p.691-712.
- SALTVEIT, M.E. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biology and Technology*, v.21, p.61-69, 2000.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.20, p.144-158, 1965.
- SISLER, E.C.; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptors level: recent developments. *Physiologia Plantarum*, v.100, p.577-582, 1997.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant Physiology*. 4th ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2006. 705p.
- TOIVONEN, P.M.A.; BRUMMELL, D.A. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, v.48, p.1-14, 2008.
- TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; LOAIZA-VELARDE, J.; BONFANTI, A.; SALTVEIT, M.E. Early wound- and ethylene-induced changes in phenylpropanoid metabolism in harvest lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.122, p.399-404, 1997.
- VITTI, M.C.D.; KLUGE, R.A.; GALLO, C.R.; SCHIAVINATO, M.A.; MORETTI, C.L.; JACOMINO, A.P. Aspectos fisiológicos e microbiológicos de beterrabas minimamente processadas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, p.1027-1032, 2004.
- VITTI, M.C.D.; YAMAMOTTO, L.K.; SASAKI, F.F.; AGUILA, J.S.; KLUGE, R.A.; JACOMINO, A.P. Quality of minimally processed beet roots stored in different temperatures. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.48, p.503-510, 2005.
- WILEY, R.C. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. New York: Chapman and Hall, 1994. 368p.
- ZHANG, Y.; CHEN, K.; ZHANG, S.; FERGUSON, I. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*, v. 28, p. 64-74, 2003.