

KARINA APARECIDA FURLANETO

**HIGIENIZAÇÃO E QUALIDADE DA COUVE-FOLHA 'MANTEIGA' MINIMAMENTE
PROCESSADA**

Botucatu

2019

KARINA APARECIDA FURLANETO

**HIGIENIZAÇÃO E QUALIDADE DA COUVE-FOLHA 'MANTEIGA' MINIMAMENTE
PROCESSADA**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Agronomia - Energia na Agricultura.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Lopes Vieites

Botucatu

2019

F985h Furlaneto, Karina
Higienização e Qualidade da Couve-folha 'Manteiga' Minimamente Processada / Karina Furlaneto. -- Botucatu, 2019
79 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu
Orientador: Rogério Lopes Vieites

1. Brassica oleracea var. acephala. 2. processamento mínimo. 3. higienizantes. 4. biguanidas. 5. oxiclureto de cálcio. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título:
"HIGIENIZAÇÃO E QUALIDADE DA COUVE-FOLHA 'MANTEIGA'
MINIMAMENTE PROCESSADAS"

AUTORA: KARINA APARECIDA FURLANETO

ORIENTADOR: ROGÉRIO LOPES VIEITES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA
(ENERGIA NA AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ROGÉRIO LOPES VIEITES
Horticultura / Faculdade de Ciências Agronômicas - Campus de Botucatu


Prof.ª Dr.ª ANGELA VACARO DE SOUZA
Coordenadora do Curso de Engenharia de Biosistemas / Faculdade de Ciências e Engenharia - FCE - UNESP
- Tupã/SP


Prof.ª Dr.ª PRICILA VEIGA DOS SANTOS
Horticultura / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP


Prof.ª Dr.ª REGINA MARTA EVANGELISTA
Horticultura / Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP - Botucatu/SP


Prof.ª Dr.ª RENATA SAAD DINIZ DE CASTRO
Pós-doutoranda - Departamento de Horticultura / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu

Botucatu, 02 de agosto de 2019.

*Àos meus amados pais,
Aparecida e José Carlos,
dedico*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, pois nos dá coragem e sabedoria para que possamos alcançar nossos objetivos.

Aos meus pais, José Carlos Furlaneto e Aparecida Gonçalves Furlaneto, pelo apoio, amizade, paciência, pelo amor incondicional, pelas infindáveis horas dedicadas a mim.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, Câmpus de Botucatu e ao Departamento de Produção Vegetal - Horticultura, por ter propiciado condições para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rogério Lopes Vieites, pela confiança depositada, acolhimento, oportunidade, amizade, paciência e pelos ensinamentos transmitidos ao longo dos anos.

Aos meus amigos e colegas de trabalho por toda ajuda e companheirismo.

À técnica do laboratório, Marcia Adriana Garcia, pelos ensinamentos, pela paciência, pela amizade e bons momentos de convivência.

À Prof^a. Dra. Regina Marta Evangelista, pelos ensinamentos, pela amizade e orientações.

À Pós-doutoranda Renata Saad Diniz por toda ajuda durante à elaboração da tese.

À amiga e profissional Dra. Flávia Aparecida de Carvalho Mariano Nasser, por todo apoio, conselhos, ajudas, enfim, todos os socorros prestados durante meu doutorado.

Ao Eng. Agrônomo MsC. Felipe Baldini pela produção da couve.

Ao CNPQ – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de estudos concedida.

Ao curso de Pós-graduação em Agronomia – Energia na Agricultura. À todos os docentes do curso de Pós-graduação pelos ensinamentos transmitidos.

Quero agradecer em especial meus amigos, que em todos os momentos fizeram com que eu não desanimasse e acreditasse que tudo é possível. Agradeço nossas conversas de madrugada, os risos, as lágrimas, os puxões de orelha, a paciência, o convívio, a AMIZADE!

À Ivone, por ser minha mãe de coração, por me ajudar incondicionalmente e me sustentar para que eu possa continuar minha caminhada.

E a todos aqueles que fizeram parte deste trabalho direta ou indiretamente.

MUITO OBRIGADA!

“Tenho em mim todos os sonhos do mundo!”

Fernando Pessoa

RESUMO

A couve-folha ocupa 5,6 % da área de produção de hortaliças no Brasil, sendo a cultivar 'Manteiga' a que possui maior aceitabilidade de mercado. Em função da mudança do estilo de vida da população brasileira está mais frequente a procura por uma alimentação mais saudável, onde as frutas e hortaliças estão se sobressaindo nas vendas. Como alternativa o consumidor tem optado por produtos minimamente processados, que estão ganhando mercado devido a sua praticidade. A higienização é uma etapa de extrema importância no processamento mínimo, onde geralmente é utilizada solução clorada, mas a grande preocupação está sendo com os resíduos deixados pelo cloro. Devido a esses resíduos, outros agentes higienizantes estão sendo propostos em substituição ao cloro, como é o caso do ácido acético, ácido peracético, compostos quaternários de amônio e as biguanidas. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes concentrações de higienizantes à base de biguanidas (comercialmente, o Frexus DC[®]) e oxiclureto de cálcio (comercialmente o Frexus CH[®]). O trabalho foi conduzido em duas etapas, no primeiro experimento a couve foi higienizada de acordo com os seguintes tratamentos: T1 (água); T2 (0,1 mL L⁻¹ Higienizante 1), T3 (0,2 mL L⁻¹ Higienizante 1), T4 (0,3 mL L⁻¹ Higienizante 1), T5 (0,4 mL L⁻¹ Higienizante 1), por 15 minutos, seguidas por enxágue em água corrente, e cortadas mecanicamente. Após o corte passaram por uma segunda higienização com o Higienizante 1 e enxágue, centrifugação por 5 minutos e embalagem em bandejas de poliestireno expandido com filme de policloreto de vinila (PVC) (± 180 g cada bandeja) e acondicionadas sob refrigeração em câmara fria (5 ± 1 °C e 85 ± 5 % de umidade relativa). No segundo experimento a couve higienizada de acordo com os seguintes tratamentos: T1 (água); T2 (15 g L⁻¹ Higienizante 2), T3 (30 g L⁻¹ Higienizante 2), T4 (60 g L⁻¹ Higienizante 2), T5 (90 g L⁻¹ Higienizante 2), por 15 minutos, seguidas por enxágue em água corrente, e cortadas em processador semi-industrial. Após o corte passaram por uma segunda higienização e enxágue, centrifugação por 5 minutos e embalagem em bandejas de poliestireno expandido com filme de policloreto de vinila (PVC) (± 180 g cada bandeja) e acondicionadas sob refrigeração em câmara fria (5 ± 1 °C e 85 ± 5 % de umidade relativa). A couve minimamente processada foi avaliada quanto ao teor de sólidos solúveis (°Brix), pH, acidez titulável (g ácido cítrico 100g⁻¹ de polpa), perda de massa fresca (%), respiração, avaliação da cor instrumental, açúcares redutores e açúcares totais,

umidade, cinzas, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH, pigmentos, flavonoides, polifenoloxidase e peroxidase e análises microbiológicas. A avaliação pós-colheita foi realizada a cada dois dias ao longo de dez dias de experimento. A análise estatística foi realizada em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com três repetições para as variáveis físico-químicas, bioquímicas e enzimáticas e cinco para a perda de massa. Os resultados foram submetidos à análise de variância, as médias comparadas por teste Tukey ($p < 0,05$), foi aplicada análise de avaliações, regressão para as análises no tempo de armazenamento. No primeiro a dose 200 mL 1000 L⁻¹ (T3) foi eficaz na manutenção das características físico-químicas e dos compostos bioativos couve-folha 'Manteiga' minimamente processada em todo o período de armazenamento. No segundo experimento A dose 30 g L⁻¹ (T3) foi a mais eficaz na manutenção das características físico-químicas na couve-folha 'Manteiga' minimamente processada.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *acephala*, processamento mínimo, higienizantes, biguanidas, oxiclreto de cálcio.

ABSTRACT

Cauliflower occupies 5.6% of the vegetable production area in Brazil, being the cultivar "Butter" the one with the highest market acceptability. Due to the changing lifestyle of the Brazilian population, the search for a healthier diet is more frequent, where fruits and vegetables are excelling in sales. Alternatively the consumer has opted for minimally processed products, which are gaining market due to their practicality. Hygienization is an extremely important step in minimal processing, where chlorinated solution is generally used, but the major concern is with the residues left by chlorine. Due to these residues, other sanitizing agents are being proposed in place of chlorine, such as acetic acid, peracetic acid, quaternary ammonium compounds and biguanides. Thus, the objective of this work was to evaluate different concentrations of biguanide-based sanitizers (commercially Frexus DC[®]) and calcium oxychloride (commercially Frexus CH[®]). The work was conducted in two stages, in the first experiment the cabbage was sanitized according to the following treatments: T1 (water); T2 (0.1 mL L⁻¹ Sanitizer 1), T3 (0.2 mL L⁻¹ Sanitizer 1), T4 (0.3 mL L⁻¹ Sanitizer 1), T5 (0.4 mL L⁻¹ Sanitizer 1) for 15 minutes, followed by rinsing under running water, and mechanically cut. After cutting, they underwent a second sanitization with Sanitizer 1 and rinse, centrifugation for 5 minutes and packaging in expanded polystyrene trays with polyvinyl chloride (PVC) film (± 180 g each tray) and refrigerated in cold room (5 ± 1 ° C and 85 ± 5 % relative humidity). In the second experiment the cabbage was sanitized according to the following treatments: T1 (water); T2 (15 g L⁻¹ Sanitizer 2), T3 (30 g L⁻¹ Sanitizer 2), T4 (60 g L⁻¹ Sanitizer 2), T5 (90 g L⁻¹ Sanitizer 2) for 15 minutes, followed by rinse under running water, and cut into semi-industrial processor. After cutting, they underwent a second cleaning and rinsing, centrifugation for 5 minutes and packaging in expanded polystyrene trays with polyvinyl chloride (PVC) film (± 180 g each tray) and refrigerated (5 ± 1 ° C). C and 85 ± 5 % relative humidity). Minimally processed cabbage was evaluated for soluble solids content (° Brix), pH, titratable acidity (g 100g⁻¹ pulp citric acid), fresh mass loss (%), respiration, instrumental color evaluation, reducing sugars and total sugars, moisture, ashes, total phenolic compounds, total antioxidant activity by DPPH free radical capture, pigments, flavonoids, polyphenoloxidase and peroxicity and microbiological analyzes. Postharvest evaluation was performed every two days over ten days of experiment. Statistical analysis was performed in a completely randomized design in a factorial

scheme with three replications for the physicochemical, biochemical and enzymatic variables and five for the mass loss. The results were subjected to analysis of variance, the means compared by Tukey test ($p < 0.05$), evaluations analysis was applied, regression for storage time analyzes. In the first dose, the 200 mL 1000 L⁻¹ (T3) was effective in maintaining the physicochemical characteristics and the minimally processed "Butter" cauliflower compounds throughout the storage period. In the second experiment The 30 g L⁻¹ (T3) dose was the most effective in maintaining the physicochemical characteristics of the minimally processed 'Butter' cauliflower.

Keywords: *Brassica oleracea* var. *acephala*, minimal processing, sinitizers, biguinides, calcium oxychloride.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valor nutricional da couve-folha.....	23
Tabela 2	Tratamentos aplicados à couve-folha 'Manteiga' minimamente processada, no Experimento I.....	34
Tabela 3	Tratamentos aplicados à couve-folha 'Manteiga' minimamente processada, no Experimento II.....	37
Tabela 4	Análise físico-química e centesimal da couve-folha 'Manteiga' <i>in natura</i> . Botucatu, 2017.....	46
Tabela 5	Contagens de coliformes termotolerantes à 45°C e <i>Salmonella</i> das amostras de couve folha 'Manteiga' minimamente processada higienizada com diferentes doses do Higienizante 1, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017....	56
Tabela 6	Contagens de coliformes termotolerantes à 45°C e <i>Salmonella</i> das amostras de couve-folha 'Manteiga' minimamente processada higienizada com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.....	67

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1	Aspectos botânicos da couve-folha.....	20
2.2	Produção, mercado e utilização da couve-folha.....	21
2.3	Composição química e valor nutricional.....	22
2.4	Processamento mínimo e legislação.....	24
2.5	Higienizantes.....	28
2.4.1	Tipos de higienizante.....	29
2.4.1.1	Hipoclorito de sódio.....	29
2.4.1.2	Dióxido de cloro.....	30
2.4.1.3	Compostos de Quaternário de amônia.....	31
2.4.1.4	Biguanidas.....	31
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1	Matéria-prima.....	33
3.2	Métodos.....	33
3.3	Análise Estatística.....	45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5	CONCLUSÃO.....	68
	REFERÊNCIAS.....	69

1 INTRODUÇÃO

A couve é pertencente à família *Brassicaceae*, sendo originária do leste do Mediterrâneo. As espécies dessa família são utilizadas como forma de alimentação humana há mais de 2000 anos a.C (BALKAYA; YANMAZ, 2005).

Normalmente a couve é consumida refogada, ou crua, na forma de salada. Recentemente está crescendo o consumo de suco de couve pela sua alta propriedade detox. Em decorrência do ritmo de vida atual da população mundial, o tempo dedicado à alimentação pelos consumidores está diminuindo, fazendo com que os consumidores optem por produtos saudáveis e de fácil e rápida preparação (KORHONEN, 2002; RAGAERT et al., 2004; BUCKLEY et al., 2007). Com isso, o consumo de alimentos minimamente processados é crescente, pois unem a qualidade nutricional das frutas e hortaliças e a praticidade na hora do preparo do alimento.

No caso dos alimentos minimamente processados o manuseio e a conservação são de extrema importância e objetiva reduzir as perdas de qualidade por deterioração.

Com o aumento do consumo de produtos minimamente processados, há constante necessidade de realização de pesquisas para ajustes e condições para realização do processamento mínimo dos alimentos, principalmente dos sanitizantes. Existe, atualmente, uma grande preocupação com relação à escolha do sanitizante a ser utilizado devido à precaução em relação a utilização do cloro em decorrência de seus resíduos.

Diante disso, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de diferentes soluções higienizantes, na qualidade de couve-folha 'Manteiga' minimamente processada.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos botânicos da couve-folha

A couve-folha (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) é uma espécie pertencente à família Brassicaceae. Sua origem é da Costa do Mediterrâneo, Ásia Menor e Costa Ocidental Europeia. É uma hortaliça arbustiva anual ou bienal que apresenta caule ereto permitindo a emissão contínua de folhas e dando um bom suporte para a planta. Diferentemente de outras espécies de sua família, tais como o brócolis e a couve-flor, a couve não possui formação de cabeça e suas folhas são distribuídas na forma de roseta ao redor do caule. Tem como produto comercial suas folhas (FILGUEIRA, 2000).

É uma espécie bem adaptada a baixas temperaturas e resistente à geadas sendo uma cultura considerada de outono-inverno. Possui também certa tolerância ao calor estendendo o seu plantio ao longo do ano (FILGUEIRA, 2000).

No Brasil, pode ser cultivada o ano todo, produzindo raramente o pendão floral e conservando-se produtiva durante alguns meses (BEZERRA, et al., 2005).

A couve é extremamente exigente em água, necessitando ser irrigada com frequência (FILGUEIRA, 2000). O déficit hídrico ocasiona o murchamento das plantas e, em conjunto com a insolação, podem provocar queimaduras nas folhas e nos brotos, causando a morte da couve. No entanto, o excesso de umidade pode favorecer a incidência de doenças (TRANI, 2015).

Assim como as outras Brássicas, a couve apresenta alta concentração de cera em suas folhas, o que auxilia na prevenção de pragas e doenças, já que não permite água livre em excesso nas folhas. Porém, devido a concentração de cera, o produtor precisa tomar cuidado com relação à pulverizações foliares (FILGUEIRA, 2000).

Entre as principais pragas da couve-folha, pode-se destacar o pulgão (*Brevicoryne brassicae*), a lagarta curuquerê (*Ascia monuste orseis*) e a lagarta mede-palmo (*Trichoplusia ni*). Em relação às doenças, merece destaque a podridão-negra, causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e a podridão-mole, causada pela bactéria *Erwinia carotovora* var. *carotovora* (TRANI, 2015).

O cultivo da couve-folha e inúmeras outras espécies de hortaliças no Estado de São Paulo e nos estados do sul tem sofrido ataques de um roedor exótico, originário da Europa, conhecido como lebrão (*Lepus europeus*). Tem hábito noturno e

é muito arisco, sendo difícil sua captura. O controle é realizado pela restrição da entrada das lebres nas áreas de plantio, com a construção de cercas feitas com telados de malha fina em torno da plantação (TRANI, 2015).

As plantas daninhas devem ser controladas por meio de capina superficial, de maneira a simplesmente roçar as plantas daninhas. Este cuidado tem a finalidade de evitar os danos nas raízes, que possibilitariam a entrada de doenças (TRANI, 2015).

Seu período de colheita é iniciado em torno de 50 a 60 dias após o transplante, porém não se recomenda colher as primeiras folhas produzidas pois há o favorecimento do desenvolvimento da planta tanto em seu sistema radicular quanto na parte aérea. A colheita então deve ser iniciada por volta de 80 a 90 dias (FILGUEIRA, 2000).

A colheita é realizada de 7-10 dias em uma mesma planta, onde são colhidas as folhas mais desenvolvidas e que estejam no tamanho exigido pelo mercado (20-30 cm de comprimento). A couve apresenta produtividade de 3 a 5 kg de folhas por planta, durante o ciclo de 6 a 8 meses (TRANI, 2015).

A coloração verde das folhas pode variar em intensidade de acordo com a cultivar. Existem diferentes cultivares de couve-folha, a mais utilizada no Estado de São Paulo, por ter maior aceitação do mercado consumidor, é a denominada cv. Manteiga. Esta cultivar possui coloração mais clara, folhas tenras, lisas ou de pouca ondulação, com pecíolos e nervuras verde claras e de rápida cocção (NOVO, 2010).

As empresas responsáveis pela produção e comercialização de sementes de híbridos de couve, apresentam características relevantes como boa produtividade, precocidade, porte compacto, propagação por sementes, elevando a produtividade (TRANI, 2015).

Porém, de maneira geral, os híbridos disponíveis para a comercialização, apresentam características que não agradam o consumidor, tornando-os uma ótima opção para atender ao mercado de minimamente processados, em programas institucionais (hospitais, penitenciárias, merenda escolar, entre outras) (TRANI, 2015).

2.2 Produção, mercado e utilização da couve-folha

A couve está inserida em uma importante cadeia produtiva. Aproximadamente 65 % dos mais de 33 mil produtores rurais, concentram a produção em áreas inferiores

a 10 hectares (SEBRAE, 2006), indicando fixação do homem no campo, uso de mão de obra familiar e geração de renda (EMBRAPA, 2012).

De acordo com o Anuário Brasileiro de Hortaliças (2016), a produção de hortaliças folhosas no Estado de São Paulo ocupou 23,3 mil hectares em 2015. Dessa área, 1,3 mil hectares foram representados pela produção de couve (CARVALHO, 2016).

Segundo o CEPEA (Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – ESALQ) a influência de safras passadas refletem na área atual de folhosas, uma vez que adversidades climáticas acabaram causando danos às safras de 2017 e 2018. Em alguns Estados produtores da Região Sudeste ocorreram diminuições de até 20% da área plantada (NOBILE; ANUNCIAÇÃO, 2019).

Para 2019, há uma perspectiva de manutenção da área ocupada por hortaliças folhosas por meio de tecnologias inteligentes e técnicas de manejo capazes de controlar a suscetibilidade à perda (NOBILE; ANUNCIAÇÃO, 2019).

Segundo dados do CEAGESP, o Estado de São Paulo é o maior produtor de couve-folha. O custo total da produção é de aproximadamente R\$ 6.000,00 por hectare e seu preço médio chega a R\$ 5,00 por maço com 10 unidades de folhas (TRANI, 2015).

No que se diz respeito a comercialização, a aparência das hortaliças folhosas é levada em consideração pelo consumidor. O tamanho, formato, brilho e a intensidade da cor da folha são os principais atributos observados na tomada de decisão de compra do consumidor (TRANI, 2015).

A couve é uma das hortaliças mais consumidas no país e, pode ser destacada como um dos principais produtos minimamente processados. É comercializada *in natura* para o consumo na forma de saladas ou refogados, ou para utilização em pratos mais requintados como farofas e charutos (onde as folhas de couve substituem as folhas de videira) (TRANI, 2015).

Em tratamentos contra a anemia e o bócio pode-se utilizar a couve-folha. Seu sumo é cicatrizante e bom para a vesícula biliar e também auxilia no combate à constipação intestinal (TRANI, 2015).

2.3 Composição química e valor nutricional

Entre os vegetais consumidos diariamente, as hortaliças folhosas não se caracterizam pelo seu aporte energético e sim como um grupo de enorme interesse para a saúde humana. Isso ocorre devido sua riqueza em vitaminas, minerais e fibras. Tais componentes tornam seu consumo indispensável para se obter uma alimentação saudável e equilibrada (ISASA, 2006).

A couve-folha apresenta grande valor nutricional (Tabela 1).

Tabela 1 – Valor nutricional da couve-folha.

	100 g de couve-folha
Carboidratos	4,3 g
Proteínas	2,9 g
Fibra Alimentar	3,1 g
Fibras solúveis	0,1 g
Gorduras saturadas e polinsaturadas	0,1 g
Cálcio	130,9 mg
Potássio	103,5 mg
Vitamina C	96,7 mg
Fósforo	48,7 mg
Magnésio	34,7 mg
Niacina	2,3 mg
Manganês	1 mg
Ferro	0,5 mg
Zinco	0,4 mg
Riboflavina B2	0,3 mg
Tiamina B1	0,2 mg
Cobre	0,1 mg
Piridoxina B6	0,1 mg

Fonte: TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.

A couve é considerada uma excelente fonte de potássio, possuindo poucas calorias e muita fibra, o que atende as necessidades de uma parcela significativa da população preocupada com a saúde. A hortaliça ainda tem 93 % de água, vitaminas e sais minerais importantes para o organismo (SEBRAE, 2006).

2.4 Processamento mínimo e legislação

O Brasil, assim como outros países em desenvolvimento, está muito suscetível à perda de alimentos através de falhas de conservação. Essas perdas são estimadas em 30 % ou mais da produção e, são atribuídas à diversos fatores como a falta de recurso humano qualificado, tecnologias inadequadas em todas as etapas da cadeia de produção, descuido no manuseio, incidência de pragas e patógenos e a precária infraestrutura que atende o setor agrícola do país (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Quando o manejo pós-colheita de hortaliças é realizado utilizando tecnologias adequadas, a perda de alimentos é minimizada, proporcionando vantagens ao produtor e o consumidor que adquire um produto com elevadas qualidades nutricionais (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Atualmente, em função da mudança de estilo de vida, a população brasileira está cada vez mais sem tempo, e está mais frequente a procura por alimentação saudável onde frutas e hortaliças estão se sobressaindo nas vendas. Uma alternativa a essa falta de tempo do consumidor são os produtos minimamente processados, um segmento que vem crescendo no Brasil e se destaca no mercado devido sua praticidade (TRANI, 2015).

São considerados produtos minimamente processados os vegetais frescos, sem conservantes, fisicamente alterados, que visam praticidade e conveniência mantendo suas características sensoriais bem como o frescor do produto inteiro (NOVO, 2010).

O processamento mínimo demanda algumas etapas que são adotadas de acordo com o vegetal escolhido. Essas etapas são seleção e classificação da matéria prima, lavagem, o processamento (corte, fatiamento, descasque), higienização, embalagem, armazenamento e comercialização (MELO et al, 2011).

A adoção das Boas Práticas de Fabricação (BPF), garantem que as hortaliças minimamente processadas se conservem por mais tempo e não acarretem nenhum dano à saúde dos consumidores, já que se trata de um produto pronto para ser consumido (GOMES et al., 2005).

A RDC Nº 275 de 30 de setembro de 2003 é o regulamento técnico responsável pelos procedimentos operacionais padronizados aplicados às indústrias de alimentos (BRASIL, 2003).

O vegetal que será utilizado como matéria-prima no processamento mínimo deve receber cuidados desde a colheita, onde serão separadas as frutas e hortaliças que atentem ao padrão de qualidade comercial para alimentos processados. Devem ser colhidos em horários frescos e serem pouco manuseados para que não haja danos mecânicos, e se houver, sejam os menores possíveis. É necessário que sejam conduzidos rapidamente da plataforma de recepção para o local de estocagem ou processamento, evitando exposição desnecessária a fontes de contaminação e/ou deterioração. Os veículos utilizados para o transporte precisam ser sanitizados e aclimatados, assim como o local em que serão recepcionados (CENCI, et al., 2006).

Quando houver necessidade de armazenar a matéria-prima antes de processá-las, o ambiente precisa ser refrigerado, em temperatura de 3 a 5 °C. Quando se tratar de folhosas ou quando o tempo de armazenamento for prolongado é aconselhável elevar a umidade relativa do ambiente para aproximadamente 90 % (CENCI, et al., 2006).

Após a recepção da matéria-prima, o vegetal deve ser selecionado, onde serão retiradas partes deterioradas ou defeituosas, garantindo uniformização e padronização do produto final. Para manter a qualidade do mesmo, as características mais importantes são a cor, aparência, o aroma, a firmeza, a ausência de lesões e defeitos e de sintomas de doenças. Nas folhosas, devem ser descartadas as folhas mais externas em decorrência da sua proximidade com o solo, visando a redução de riscos de contaminação natural (GOMES et al., 2005).

Deve ser dada uma atenção especial aos aspectos de segurança, como níveis os residuais de agrotóxicos e elevada carga microbiana, os quais poderão ser controlados através de manejo adequado, visitas periódicas e treinamento aos produtores e fornecedores de matéria-prima (CENCI, et al., 2006).

A lavagem, deve ser realizada primeiramente com água limpa e gelada. No caso de folhosas, anteriormente à lavagem, acontece um rápido resfriamento para que as folhas possam se manter vigorosas (MELO et al., 2011).

A qualidade da água utilizada na lavagem é um dos fatores de maior importância para que haja garantia na produção de vegetais minimamente processados seguros. É necessário considerar a fonte da água na implantação de uma indústria deste setor, havendo necessidade de um monitoramento periódico (CENCI, et al., 2006). A RDC nº 77 de 16 de abril de 2001, da ANVISA monitora a

eficácia dos produtos para desinfecção da água, de frutas e hortaliças que deverão confirmar sua eficácia frente à *Escherichia coli* (BRASIL, 2001a).

O corte das hortaliças são realizados com a utilização de facas de aço inoxidável afiadas, cortadores manuais ou equipamentos com sistemas de lâminas de cortes diferenciados que irão melhorar a precisão do corte, uniformizando e reduzindo os danos causados ao produto final. O corte acelera a respiração do tecido vegetal e conseqüentemente causa lesões mecânicas, as quais irão liberar substâncias presentes no interior da célula, degradando tecido vegetal e favorecendo o desenvolvimento de microrganismos, portanto é de extrema necessidade manter facas e/ou lâminas de corte sempre limpas e bem afiadas, reduzindo os possíveis danos nos produtos processados (GOMES et al., 2005).

O objetivo do processo de higienização é a diminuição da contaminação microbiana do produto, que pode ser favorecida pelo processamento mínimo em decorrência do manuseio e do aumento de injúrias mecânicas. Esses microrganismos deterioradores e patogênicos vão acelerar a perda de qualidade e reduzir o tempo de prateleira dos produtos (VANETTI, 2000).

A higienização é um processo de extrema importância que consiste entre eles na imersão do produto já cortado em uma solução concentrada de cloro (de 100 a 200 ppm), ou seja, de 1 a 2 mL de hipoclorito de sódio (10 %) para 1 L de água, ou água sanitária comercial (de 2,0 % a 2,5 %), utilizando-se de 5 a 10 mL (1 a 2 colheres de sopa rasas) em 1 L de água. As frutas e/ou hortaliças devem ficar em contato com a solução por, no mínimo, 15 minutos. Em seguida devem ser enxaguadas com água limpa (GOMES et al., 2005).

Existem outros agentes higienizantes permitidos pela ANVISA, como o ácido peracético de acordo com a RDC nº 2 de 08 de janeiro de 2004 que regulamenta a sua utilização como coadjuvante de tecnologia na função de sanitizante na lavagem de frutas e hortaliças em quantidade suficiente para obter o efeito desejado, sem deixar resíduos no produto final (BRASIL, 2004a).

Após o enxágue do vegetal, o mesmo deve ser centrifugado para a retirada do excesso de água e posterior embalagem (CENSI, et al., 2006).

O produto minimamente processado pode ser acondicionado em sacos plásticos de polietileno de alta e baixa densidade, polipropileno ou bandejas de policloreto de vinila (PVC), de acordo com o tipo de matéria-prima a ser embalada.

Uma embalagem adequada evita contaminações e aumenta da vida útil do produto (CENSI, et al., 2006).

De acordo com o tipo de produto, o uso de atmosfera modificada ativa via injeção de uma mistura de gases (nitrogênio, dióxido de carbono e oxigênio) no interior da embalagem pode aumentar sua vida útil, desde que não provoque uma condição de anaerobiose (falta de oxigênio) que poderá beneficiar o crescimento de microrganismos anaeróbios, causadores de sérios riscos para a saúde do consumidor (CENSI, et al., 2006).

Após serem embalados, os produtos podem ser armazenados em caixas plásticas retornáveis, o que facilita o seu armazenamento e distribuição. Sempre que as caixas plásticas utilizadas retornarem para a empresa, devem ser limpas e sanitizadas (CENSI, et al., 2006).

Depois de embalados, os vegetais minimamente processados necessitam ser armazenados sob refrigeração (± 5 °C). A embalagem e a refrigeração, juntamente com a higienização são fatores primordiais na manutenção da qualidade e na segurança do alimento minimamente processado (CENSI, et al., 2006).

O transporte do produto minimamente processado para sua comercialização deve ser o mais rápido possível e sempre refrigerado, em caixas isotérmicas (isopor) ou caminhões frigoríficos previamente sanitizadas com solução de hipoclorito de sódio (50 ppm) (CENSI, et al., 2006).

As grandes redes de comercialização têm exigido cada vez mais de seus fornecedores a implementação de processos que possam melhorar a qualidade, tornando-se assim um fator crucial na seleção destes fornecedores. Diante disto, cada vez mais as empresas produtoras irão adotar técnicas de gerenciamento da cadeia alimentar, enfatizando entregas mais rápidas, melhoria da cadeia de frio e tecnologias de embalagens melhoradas (CENSI, et al., 2006).

A Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA) possui algumas normativas, resoluções, decretos e portarias para assegurar a qualidade e a segurança dos vegetais minimamente processados, em âmbito nacional.

Órgãos e instituições internacionais como a U.S. Food and Drug Administration (FDA), *World Health Organization* (WHO), *Codex Alimentarius Commission* (CAC) e a *International Commission for the Microbiological Specifications of Foods* (ICMSF) instituem e regularizam os vegetais minimamente processados em relação à níveis de toxicidade, controles sanitários e boas práticas de fabricação.

2.5 Higienizantes

Nas últimas décadas, as infecções alimentares tem crescido e se tornado uma preocupação mundial das organizações responsáveis pela saúde pública. As doenças causadas por microrganismos presentes nos alimentos tem mudado, devido a fatores como o aumento da susceptibilidade da população, mudanças na alimentação e ao aparecimento de patógenos, que estão atrelados na produção, processamento e distribuição dos alimentos (FORSYTHE, 2002).

Com o aumento das DTA's (doenças transmitidas por alimentos), a segurança alimentar tem sido frequentemente discutida, devido a sua importância no comércio internacional. Para diminuir esses problemas, as boas práticas de produção estão sendo desenvolvidas, bem como a regulamentação de novos parâmetros (STEWART et al., 2002).

Listeria monocytogenes, *Salmonella*, *Clostridium botulinum* e *Escherichia coli* são os microrganismos patogênicos mais atrelados à agricultura (IFPA, 2001). Muitos desses microrganismos geralmente são inofensivos por serem habitantes naturais do intestino humano entretanto, algumas estirpes como *E. Coli* e *Salmonella* podem causar doenças e até morte no ser humano (MORETTI, 2007).

A *Salmonella* é um gênero da família *Enterobacteriaceae*, definidos como bastonetes Gram negativo não esporogênicos, anaeróbios facultativos e oxidante negativos (SILVA, et al., 2007), sendo considerado o principal agente causador de doenças de origem alimentar (WHO, 2005).

O grupo do coliformes totais é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* que inclui 44 gêneros e 176 espécies (BRENNER; FARMER, 2005). Já o grupo dos coliformes termotolerantes (antigamente conhecidos como coliformes fecais) é um subgrupo dos coliformes totais restrito capazes de fermentar a lactose em 24 horas. As bactérias originárias do trato intestinal *E. coli* está dentro do grupo dos coliformes totais e do grupo de coliformes termotolerantes.

O habitat natural da *E. coli* é o trato intestinal dos animais de sangue quente, embora possa ser introduzida nos alimentos de fontes não fecais (SILVA, et al., 2007). Podem ser encontrados em reservatórios ambientais, e são consideradas indicadores de contaminação fecal em alimentos *in natura*.

Segundo Guimarães et al. (2003), a contaminação dos produtos pode ocorrer desde a irrigação, colheita, produção, transporte, armazenagem ou manipulação das hortaliças.

O intenso manuseio, a presença de injúrias no tecido vegetal além do elevado teor de umidade no interior das embalagens dos produtos minimamente processados favorecem a contaminação dos alimentos por microrganismos deteriorantes e patogênicos (WILEY, 1994). As medidas de controle e segurança devem abranger todo o ciclo de produção no campo, a colheita, o processamento e a distribuição dos produtos (MORETTI, 2007).

A taxa de deterioração do vegetal aumenta com a transferência da microbiota da casca para a polpa, lugar onde os microrganismos encontram condições que favorecem seu crescimento (BRACKETT, 1987).

A água utilizada para irrigação bem como os fertilizantes orgânicos devem ter a fonte identificada (própria do município, reutilizada de sistemas de irrigação, reservas naturais, rios, canais entre outras) e precisam ser monitorados frequentemente com controles microbiológicos (MORETTI, 2007). É imprescindível também a desinfecção de equipamentos e utensílios bem como a higienização do vegetal (SUSLOW, 1997).

Segundo a RDC N° 216 de 15 de setembro de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a higienização pode ser definida como a limpeza e a desinfecção. A limpeza é uma operação de remoção de substâncias minerais e ou orgânicas indesejáveis e a desinfecção é uma operação de redução, por método físico e ou agente químico, do número de microrganismos em nível que não comprometa a qualidade higiênicosanitária do alimento (BRASIL, 2004b).

2.5.1 Tipos de higienizantes utilizados

Pesquisadores da área de higiene de alimentos tem estudado, há algum tempo, alguns higienizantes. Dentre eles, pode-se citar as soluções desinfetantes a base de cloro, compostos de amônia quaternária, os ácidos orgânicos (como o ácido cítrico, o ácido láctico), entre outros (BERBARI; PASCHOALINO; SILVEIRA, 2001).

2.5.1.1 Hipoclorito de sódio

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é o agente higienizante permitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), mais utilizado pelas empresas brasileiras de vegetais minimamente processados (BERBARI; PASCHOALINO; SILVEIRA, 2001).

Os higienizantes a base de cloro, além de serem eficientes, possuem um baixo custo de mercado e ampla aplicação, como por exemplo, na forma de spray, para o controle bacteriológico nas indústrias (BERBARI; PASCHOALINO; SILVEIRA, 2001).

A ação do cloro nas frutas e hortaliças minimamente processadas está relacionada com a sua capacidade oxidativa de reagir com as proteínas da membrana celular bacteriana, formando o composto N-cloro, interferindo no transporte de nutrientes para célula, provocando sua morte (VANETTI, 2005).

Para ser efetiva, a higienização com cloro é dependente de fatores determinantes à eficácia do efeito antimicrobiano como pH, concentração de cloro ativo da solução e tempo de ação (BANWART, 1989; ANDRADE, MARTYN, 1996). Devido ao seu potencial oxidante, o cloro livre pode ocasionar reações com compostos orgânicos sintéticos e naturais, participando de reações de substituição e oxidação, onde suas moléculas são adicionadas às moléculas precursoras (FILHO e SAKAGUTI, 2008).

Nos últimos anos, existe uma crescente preocupação com relação ao uso do hipoclorito e de demais sais de cloro em alimentos, por serem considerados precursores de cloraminas orgânicas, danosas à saúde humana em decorrência do seu alto potencial carcinogênico (JAQUES et al., 2015).

Devido à preocupação com os resíduos deixados pelos produtos à base de cloro, outros agentes higienizantes têm sido propostos visando a substituição do hipoclorito de sódio na higienização de hortaliças (SREBERNICH, 2007). Em outros países, agentes como ácido acético, ácido peracético e o dióxido de cloro ganharam aceitação por serem considerados tão eficazes quanto o cloro (ARENSTEIN, 2003).

2.5.1.2 Dióxido de Cloro

O dióxido de cloro é um composto inorgânico que vem se destacando (ARENSTEIN, 2003), pois mesmo sendo um derivado do cloro, ele gera quantidades insignificantes de subprodutos (trihalometanos) não se obtendo a formação de cloraminas, e sendo os fenóis oxidados a formas mais simples, caracterizando-se assim como um sanitizante de baixo potencial carcinogênico (McNEAL, et al., 1995).

É um agente oxidante forte, que na maioria das vezes reage por meio do mecanismo de transferência de elétrons atacando a membrana celular, penetrando, desidratando, e por último, oxidando os componentes internos da célula microbiana sem, no entanto, causar ação tóxica como a maioria dos compostos de cloro. Apresenta também a vantagem de ser eficaz com os microrganismos gram negativos e gram positivos. Ainda, pelo fato de hidrolisar os compostos fenólicos diminui a possibilidade da formação de sabores e odores estranhos (McNEAL, et al., 1995).

Outro aspecto importante do dióxido de cloro é sua elevada ação higienizante e esporicida, que se dá em concentrações menores de cloro, e que é resultante do mesmo ser solúvel em óleos, graxas e substâncias de composição mista, como células de vírus e de bactérias, em cujas membranas penetram facilmente, ao contrário dos outros sanitizantes de natureza polar (McNEAL, et al., 1995). O dióxido de cloro possui elevada eficácia na faixa de pH de 6 a 10, permitindo assim uma maior mortalidade de alguns microrganismos.

Nos últimos anos, diversas pesquisas com o dióxido de cloro foram realizados em todo o mundo, comprovando sua eficácia. Estudos realizados por FELKEY et al. (2003) e RASH (2003) mostraram a eficiência do dióxido de cloro na redução de *Salmonella* sp. nas superfícies de tomate e melão.

2.5.1.3 Compostos de Quaternário de Amônia

Os compostos quaternários de amônia tem sido bastante estudados e utilizados como uma alternativa ao uso de compostos clorados (VELÁZQUES et al., 2009). São considerados compostos químicos bastante complexos. Estudos comprovam que quando entram em contato com a membrana celular dos microrganismos, alteram sua permeabilidade estimulando a glicólise e provocando então o esgotamento celular. São considerados compostos fáceis de serem preparados e aplicados, possuem capacidade neutralizadora de odores e tem um elevado espectro de ação, exceto as bactérias gram negativas (NASCIMENTO; DELGADO; BARBARIC, 2010).

Um estudo realizado por Oliveira & Silva (2010), constatou que o composto a base de quaternários de amônia (400 ppm do princípio ativo) apresentou maior eficiência em relação ao composto clorado (50,2 ppm) na redução da contaminação por *Salmonella enteritidis* e mesófilos totais.

2.5.1.4 Biguanidas

Pesquisadores de todo o mundo estudam as biguanidas poliméricas como agentes antimicrobianos, especialmente o Cloridrato de Polihexametileno Biguanida (PHMB), que recentemente é utilizado em diversas aplicações antimicrobianas devido ao seu amplo espectro de ação no controle de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e vírus (FRANZIN, 1988).

Segundo Franzin (1988), a ampla ação das biguanidas poliméricas aliada à sua boa estabilidade térmica, baixa formação de espuma, alta solubilidade em água, baixa volatilidade e corrosividade, somados aos estudos de toxicidade em mamíferos e ao meio ambiente, a caracterizam como um antimicrobiano de última geração, seguro, eficiente e versátil para formulação de higienizantes de uso industrial, institucional e doméstico tornando-a uma melhor opção de custo benefício quando comparada aos antimicrobianos tradicionais.

São utilizadas em formulações higienizantes para indústrias alimentícias, possuindo uma elevada atividade no controle de microrganismos patogênicos, tais como, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosas* bem como endoesporos de bactérias termoresistentes (*Bacillus* sp.) (FRANZIN, 1988).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima

Foram utilizadas couve-folha cv. 'Manteiga', híbrido Hi-Crop, da safra 2017, de um cultivo convencional, adquiridas de uma produção comercial, no Sítio Janeiro, localizado na cidade de Pardinho – São Paulo. Após a colheita, o lote de couve foi imediatamente transportado ao Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças do Departamento de Horticultura da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu, SP, onde foi armazenada em câmara fria (5 ± 1 °C e 8 ± 5 % de umidade relativa).

Para a higienização foram utilizados dois higienizantes: o Higienizante 1 (comercialmente, o *Frexus DC*[®] composto por 60 % de amônia quaternária e 40 % de biguanidas poliméricas) e o Higienizante 2 (comercialmente, o *Frexus CH*[®] composto por oxicloreto de cálcio).

3.2 Métodos

3.2.1 Preparo da couve-folha

Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro realizado na empresa “Verde Limpo”, Km 279,2 da Rodovia Marechal Rondon, Sentindo São Manuel-Bauru, SP. O segundo experimento foi realizado no Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças do Departamento de Horticultura da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu, SP.

A couve-folha foi selecionada visando a retirada de algumas injúrias por pragas e doenças (Figura 1). Os talos foram retirados manualmente (Figura 2). Após a seleção, a couve foi lavada em água corrente, higienizada em tanques com capacidade para 100 L conforme os tratamentos descritos na Tabela 2 (Experimento I) e Tabela 3 (Experimento II), seguido de enxágue e corte mecânico.

A couve minimamente processada foi conservada sob refrigeração em câmara fria (5 ± 1 °C e 85 ± 5 % de umidade relativa) e avaliadas a cada dois dias, durante dez dias.

Todas as análises físico-químicas foram realizadas em triplicata, no Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças, Departamento de Horticultura da Universidade

Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agronômicas, Campus de Botucatu, SP.

3.3.2 Experimento I

A couve-folha foi transportada em caixas de isopor com *gelo* até a empresa “Verde Limpo”, para a realização do processamento.

A higienização da mesma seguiu os tratamentos descritos na Tabela 2. Os tratamentos ficaram imersos em solução higienizante por 15 minutos. Após a higienização e enxágue, o corte foi mecânico (Figura 3).

Após o corte, a couve passou por uma segunda higienização, composta pelos mesmos tratamentos descritos na Tabela 2, seguidos de enxágue e centrifugação. Depois de centrifugada a couve foi embalada em bandeja de poliestireno expandido com filme de PVC com aproximadamente 180 g de couve (Figura 4).

Tabela 2 – Tratamentos aplicados à couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada, no Experimento I.

TRATAMENTOS	
Tratamento 1	Testemunha higienizada com água potável
Tratamento 2	0,1 mL L ⁻¹ Higienizante 1 (60 % de amônia quaternária e 40 % de biguanidas)
Tratamento 3	0,2 mL L ⁻¹ Higienizante 1 (60 % de amônia quaternária e 40 % de biguanidas)
Tratamento 4	0,3 mL L ⁻¹ Higienizante 1 (60 % de amônia quaternária e 40 % de biguanidas)
Tratamento 5	0,4 mL L ⁻¹ Higienizante 1 (60 % de amônia quaternária e 40 % de biguanidas)

Figura 1 – Seleção da couve-folha ‘Manteiga’.



Fonte: Karina Aparecida Furlaneto - 2017

Figura 2 – Retirada do talo manualmente.



Fonte: Karina Aparecida Furlaneto - 2017

Figura 3 – Corte mecânico da couve-folha.



Figura 4 – Couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada.



3.2.3 Experimento II

A couve-folha foi higienizada seguindo os tratamentos descritos na Tabela 3, por 15 minutos. Após a higienização e enxágue, o corte foi realizado em processador semi-industrial (Figura 5).

Após o corte, a couve passou por uma segunda higienização, compostas pelos mesmos tratamentos descritos na Tabela 3, seguidas de enxágue e centrifugação (Figura 6). Logo após a couve foi embalada em bandeja de poliestireno expandido com filme de PVC com aproximadamente 180 g de couve

Tabela 3 – Tratamentos aplicados à couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada, no Experimento II.

TRATAMENTOS	
Tratamento 1	Testemunha higienizada com água potável
Tratamento 2	15 g L ⁻¹ Higienizante 2
Tratamento 3*	30 g L ⁻¹ Higienizante 2
Tratamento 4	60 g L ⁻¹ Higienizante 2
Tratamento 5	90 g L ⁻¹ Higienizante 2

Figura 5 – Corte da couve-folha ‘Manteiga’ em processador semi-industrial.



Figura 6 – Centrifugação da couve-folha minimamente processada.



3.2.4 Análises físico-químicas em couve-folha ‘Manteiga’ *in natura* e minimamente processada nos dois experimentos

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças, Departamento de Horticultura da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu, SP.

3.2.4.1 Perda de Massa Fresca:

A pesagem foi feita em balança semi-analítica a cada dois dias. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

3.2.4.2 Sólidos Solúveis (SS):

Os teores de sólidos solúveis foram determinados por leitura refratométrica direta expressa em °Brix, conforme metodologia de AOAC (2005), utilizando-se refratômetro de mesa (marca Biobrix) a 25 °C).

3.2.4.3 Potencial Hidrogeniônico (pH):

A leitura de pH foi realizada utilizando-se um potenciômetro digital TECNAL (Tec-3MP), conforme metodologia do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2008).

3.2.4.4 Acidez titulável (AT):

Foi determinada por titulometria com solução padronizada de hidróxido de sódio a 0,1 mol L⁻¹, tendo como indicador o ponto de viragem da fenolftaleína, utilizando-se 5 g de couve diluídas em 100 mL de água destilada. Os valores foram expressos em g de ácido cítrico 100 g⁻¹ de amostra, conforme metodologia recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2008).

3.2.4.5 Taxa Respiratória:

A taxa respiratória foi calculada a partir de uma curva obtida pela avaliação a cada 2 dias. A determinação da taxa de respiração foi realizada através de respirômetro, pela medida de CO₂ liberado, de acordo com metodologia adaptada de Bleinroth; Zuchini e Pompeo (1976). A respiração foi calculada pela seguinte fórmula:

$$TCO_2 = \frac{[2,2 * (A - B) * V1]}{(p * t * V2)}$$

Onde:

TCO₂ = Taxa de respiração em mL de CO₂. Kg de fruta⁻¹ h⁻¹;

B = Volume gasto em mL de HCl padronizado para a titulação de hidróxido de potássio padrão antes da absorção de CO₂;

A = Volume gasto de HCl padronizado para a titulação de hidróxido de potássio após a absorção de CO₂ da respiração;

V1 = Volume de hidróxido de potássio usado na absorção de CO₂ (mL)

p = Peso dos frutos (kg);

t = Tempo das reações metabólicas (1 hora);

V2 = Volume de hidróxido de potássio utilizado na titulação (mL);

2.2 = Devido ao equivalente de CO₂ (44/2) multiplicado pela concentração do ácido clorídrico a 0,1 N.

3.2.4.6 Avaliação da cor instrumental:

A coloração foi realizada com medição em dois pontos couve minimamente processada utilizando-se de colorímetro da marca Konica Minolta (Chroma meter, CR 400). Onde L*, expresso em porcentagem, indica valores de luminosidade (0 % = negro e 100 % = branco).

O ângulo *Hue* é o valor em graus correspondente ao diagrama tridimensional de cores 0° (vermelho), 90° (amarelo) e 270° (azul), possuindo variação de: 0 a 18° para a coloração vermelho-violeta, 19 a 54° para a coloração vermelho, 55 a 90° para a coloração laranja, 91 a 126° para a coloração amarelo, 127 a 162° para amarelo-verde, 163 a 198° para a coloração verde, 199 a 234° para azul-verde, 235 a 270° para azul, 271 a 306° para azul-violeta e 307 a 342° para violeta, 343 a 360° vermelho-violeta, perfazendo 360°. C* é representado pelo Cromo que define a intensidade da cor (MINOLTA, 1998).

3.2.4.7 Açúcares redutores:

A metodologia aplicada foi descrita por Nelson (1944) e adaptada por Somogy (1945). O aparelho utilizado para leitura foi o espectrofotômetro Micronal B-382, sendo a leitura realizada a 535 nm, expressos em porcentagem (%).

3.2.4.8 Umidade:

O teor de água foi determinado de acordo com o método descrito por Instituto Adolfo Lutz, pesando cerca de 3 gramas da amostra, colocados em cadinhos e levado para estufa com aquecimento a 105 ± 1 °C com ar forçado até peso constante. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) (BRASIL, 2008).

3.2.4.9 Cinzas:

A quantidade de cinzas foi determinada de acordo com o método descrito por Instituto Adolfo Lutz. Utilizou-se cerca de 3 gramas de amostra que colocados em cadinhos foram queimados em Mufla 570 °C durante 2 horas. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) (BRASIL, 2008).

3.2.5 Análises bioquímicas e enzimáticas em couve-folha 'Manteiga' *in natura* e minimamente processada nos dois experimentos

3.2.5.1 Preparo do extrato de couve-folha para determinação de Compostos Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH:

Foi utilizada a mistura de solventes metanol:água (50:50 v/v) para a extração, onde este foi considerado um ótimo solvente para a extração após a realização de testes, comparando etanol:água (50:50 v/v); metanol:água (70:30 v/v) e acetona:água (50:50 v/v).

Os extratos de couve-folha foram obtidos em triplicata. Foi pesado 0,1 g de couve macerada em nitrogênio líquido em tubos tipo Falcon onde foram adicionados 5 mL da mistura metanol:água (50:50 v/v). Os tubos contendo couve e o metanol 50 % foram submetidos à trituração com Turrax por alguns minutos a temperatura ambiente. Em seguida, os extratos foram levados ao banho ultrassônico por 20 minutos e em seguida centrifugados a 5000 rpm durante 15 minutos. Na sequência, foi retirado o sobrenadante e armazenado em frascos âmbar à temperatura de 8 °C. Foram adicionados no tubo tipo Falcon mais 5 mL da mistura metanol:água (50:50 v/v). Os tubos contendo couve e o metanol 50 % foram novamente submetidos à trituração com Turrax por alguns minutos a temperatura ambiente. Em seguida, os extratos foram levados novamente ao banho ultrassônico por 20 minutos e em seguida centrifugados a 5000 rpm durante 15 minutos. Na sequência, foi retirado o sobrenadante e armazenado em frascos âmbar juntamente com o primeiro sobrenadante retirado à temperatura de 8°C até o momento das análises de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método DPPH.

3.2.5.2 Compostos Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos totais do extrato de couve-folha foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA, 1999). Para a realização da análise, uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi transferida para um tubo e adicionado 2,5 mL do reagente Folin/Ciocalteu, diluído em água 1:10. A mistura permaneceu em repouso por cinco minutos. Em seguida foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio 4 % e os tubos deixados em repouso por 2 horas, ao abrigo da luz. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 750

nm. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico 100 gramas⁻¹ de polpa fresca, com base em uma curva de calibração.

3.2.5.3 Atividade Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH:

A medida da capacidade sequestrante foi determinada pelo método DPPH baseado no princípio de que o DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil), sendo um radical estável de coloração violeta, aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula estável, sendo reduzido na presença de um antioxidante e adquirindo coloração amarela.

A reação foi composta pela adição de 3,0 mL de metanol P.A., 0,5 mL do extrato de couve, e 0,3 mL do radical DPPH em solução de metanol 0,5 mM e incubada por 45 minutos, em temperatura ambiente e ao abrigo a luz. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 517 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem (MENSOR et al., 2001).

3.3.5.4 Pigmentos

A determinação do teor de pigmentos foi feita segundo a metodologia de Linder (1974) e Whitham, Blaydese e Devlin (1971), a partir de 50 mg de couve-folha macerada em nitrogênio líquido adicionados de 3 mL de acetona tamponada Tris-HCl, homogeneizados e centrifugados por 5 minutos a 5000 rpm. O sobrenadante foi retirado com auxílio de uma pipeta automática e a leitura da absorbância realizada em espectrofotômetro a 663 nm para clorofila A, 647 nm para colorofila B, 537 nm para antocianinas e 470 nm para carotenoides. Os resultados foram expressos em µg por 100 g⁻¹ de polpa.

3.2.5.5 Flavonoides

O teor de flavonoides foi realizado pelo método espectrofotométrico adaptado de Santos e Blatt (1998) e Awad, Jager e Westing (2000). Foram pesados aproximadamente 0,2 g de couve-folha macerada em nitrogênio líquido e adicionado 4 mL de metanol acidificado (Metanol 70 % + ácido acético 10 %). Posteriormente foram levados em banho ultrassônico por 30 minutos, adicionou-se 1 mL de solução de cloreto de alumínio 5 % (peso/volume) em metanol. Em seguida, foi acondicionado ao abrigo da luz por 30 minutos e depois centrifugados por 20 minutos a 5000 rpm. O

sobrenadante foi retirado e realizada leitura em espectrofotômetro a 425 nm. Os resultados foram expressos em mg de quercetina 100g⁻¹ de amostra.

3.2.5.6 Atividade da Enzima Polifenoloxidase (PFO - EC 1.10.3.1)

A extração e determinação da enzima foram feitas de acordo com o método de Kar & Mishra (1976) com adaptações, com os resultados expressos em µmol de catecol transformado min⁻¹ g⁻¹ de matéria fresca. Para preparo do extrato enzimático pesaram-se de 0,1 g de couve-folha macerada em nitrogênio líquido e homogeneizada com 10 mL de tampão fosfato de potássio 2M pH 7,5. O mesmo foi centrifugado durante 50 minutos, a 5000 rpm, a 4 °C. Foi retirado o sobrenadante e realizada a pipetagem das amostras, com 1,85 mL de catecol 0,1 M e 0,3 mL do extrato. Para calibrar o espectrofotômetro utilizado na leitura foi pipetado 0,3 mL de tampão fosfato de sódio 2M pH 7,0 e 1,85 de catecol 0,1 M. Após esse processo, foi colocado em banho maria por 30 minutos, a 30 °C. Então nos tubos com amostras foram levados para o banho fervente por 5 minutos para que cessasse a reação para poder ser realizada a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 395 nm.

3.2.5.7 Atividade da Enzima Peroxidase (POD - EC 1.11.1.7)

A extração e determinação da enzima foram feitas de acordo com o método de Lima et al. (1999) com adaptações, com os resultados expressos em µmol H₂O₂ decomposto min⁻¹ g⁻¹ de matéria fresca. Para preparo do extrato enzimático pesaram-se de 0,1 g de couve-folha macerada em nitrogênio líquido e homogeneizada com 10 mL de tampão fosfato de potássio 2M pH 7,5. O mesmo foi centrifugado durante 50 minutos, a 6000 rpm, a 4 °C. Foi retirado o sobrenadante e realizada a pipetagem das amostras, com 0,5 mL de peróxido, 0,5 mL de Aminoantiperina, 1 mL de extrato, levado ao banho maria a 30 °C por 5 minutos e utilizado 2 mL de álcool etílico PA para paralisar a reação. Para calibrar o espectrofotômetro utilizado na leitura foi pipetado 0,5 mL de peróxido, 0,5 mL de Aminoantiperina, 1 mL de tampão fosfato de sódio e 2 mL de álcool etílico. A leitura foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 505 nm.

3.2.6 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Microbiologia e Imunologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP.

A Resolução RDC N° 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde, estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos, não existindo padrões específicos para vegetais minimamente processados. Estes podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: “frutas frescas, in natura, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto”, cuja tolerância máxima para amostra indicativa é de 5×10^2 NMP g⁻¹ ou UFC g⁻¹ de coliformes a 45° C e ausência de *Salmonella* spp. em 25g (BRASIL, 2001a).

3.2.6.1 Preparo das amostras e diluições:

Para a pesquisa das bactérias de interesse, 25 gramas de cada amostra de couve-folha foram homogeneizados em um saco de *stomacher* com 225 mL de água peptonada tamponada estéril por 2- 4 minutos e acondicionados em garrafas estéreis. A partir dessa diluição inicial (10^{-1}), foram preparadas diluições seriadas (até 10^{-3}), utilizando salina (0,85 %).

3.3.6.2 Determinação de *Salmonella* spp.

Para avaliar a presença de *Salmonella*, os 25 gramas de cada amostra homogeneizados com 225 mL de água peptonada tamponada (pré-enriquecimento) foram incubados a 35 °C durante 24 horas. Alíquotas 1 mL e 0,1 mL foram inoculadas, respectivamente, em 10 mL de caldo Tetrionato e em 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis e incubados a 35 °C durante 24 horas e 42 °C por 24 horas.

A partir de cada caldo, uma alíquota foi semeada em ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e em ágar Cromogênico *Salmonella* (CHROMAgar *Salmonella*), seguido de incubação a 35 °C por 24 horas. A seguir, a presença de colônias características foi avaliada e, no caso de haver colônias suspeitas, as mesmas foram testadas no Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) inclinado, fenilalanina e ágar MILI (Movimento, Indol e Lisina). As cepas com perfil positivo 25 para *Salmonella* foram submetidas ao API-20E (Biomérieux). Uma vez confirmado esse gênero, as cepas foram submetidas a testes sorológicos somático e flagelar (ANDREWS et al., 2001).

3.2.6.3 Contagem de Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes:

A pesquisa de coliformes termotolerantes foi realizada por meio da técnica de tubos múltiplos. Foi transferido 1 mL de cada diluição (até 10^{-3}) a séries de três tubos por diluição contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato com tubo de Durhan invertido. Após incubação a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 48 h^{-1} , os tubos que se apresentaram turvos e com produção de gás foram considerados positivos e 3 alçadas de cada um foram transferidas para um tubo contendo Caldo E.C., com tubo de Durhan invertido, incubados a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 24 h^{-1} . Em B.O.D.

A seguir, utilizando-se a tabela do NMP, foi calculado o NMP de CT por grama de amostra analisada. Havendo o crescimento com produção de gás nos tubos EC foi considerado confirmativo para coliformes termotolerantes (KORNACKI; JOHNSON, 2001).

3.3 Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado nos dois experimentos, foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5×6 (tratamento x armazenamento), com três repetições para as análises físico-químicas. Para a perda de massa fresca foram utilizadas cinco repetições. Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas por meio do teste de Tukey com 95 % de probabilidade. Para o período de armazenamento foi feita regressão polinomial.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 4 são apresentados os dados da caracterização da couve-folha 'Manteiga' *in natura*. Nasser (2018) em amostras de couve-folha citou sólidos solúveis de 9,16 a 9,5 °Brix, pH de 6,22 a 6,27 e acidez titulável em torno de 0,25 g de ácido cítrico 100 g⁻¹, de modo geral semelhantes aos obtidos na presente pesquisa. Valores menores foram encontrados em pesquisa com couve-folha 'Manteiga' por Sanches et al. (2016), citaram 7,8 °Brix de sólidos solúveis e pH de 5,2.

Na caracterização centesimal Nasser (2018) citou em sua pesquisa, em média 1,74 % de açúcar redutor, 1,93 % de fibras e 2,82 % de proteína. Essas diferenças provavelmente se dão pelos diferentes manejos no cultivo da hortaliça, clima e variedade utilizada.

Tabela 4 – Análise físico-química e centesimal da couve-folha 'Manteiga' *in natura*. Botucatu, 2017.

Análises	*Média ± desvio padrão
Sólidos solúveis (°Brix)	10,0 ± 0,00
pH	6,5 ± 0,03
Acidez titulável (g de ácido cítrico 100 g ⁻¹)	0,1 ± 0,01
Umidade (%)	90,3 ± 0,45
Cinzas (%)	1,73 ± 0,06
Gordura (%)	0,33 ± 0,36
Fibras (%)	1,06 ± 0,07
Açúcar redutor (%)	1,39 ± 0,13
Proteína (%)	2,67 ± 0,13

*Média de 3 repetições.

4.1 EXPERIMENTO I:

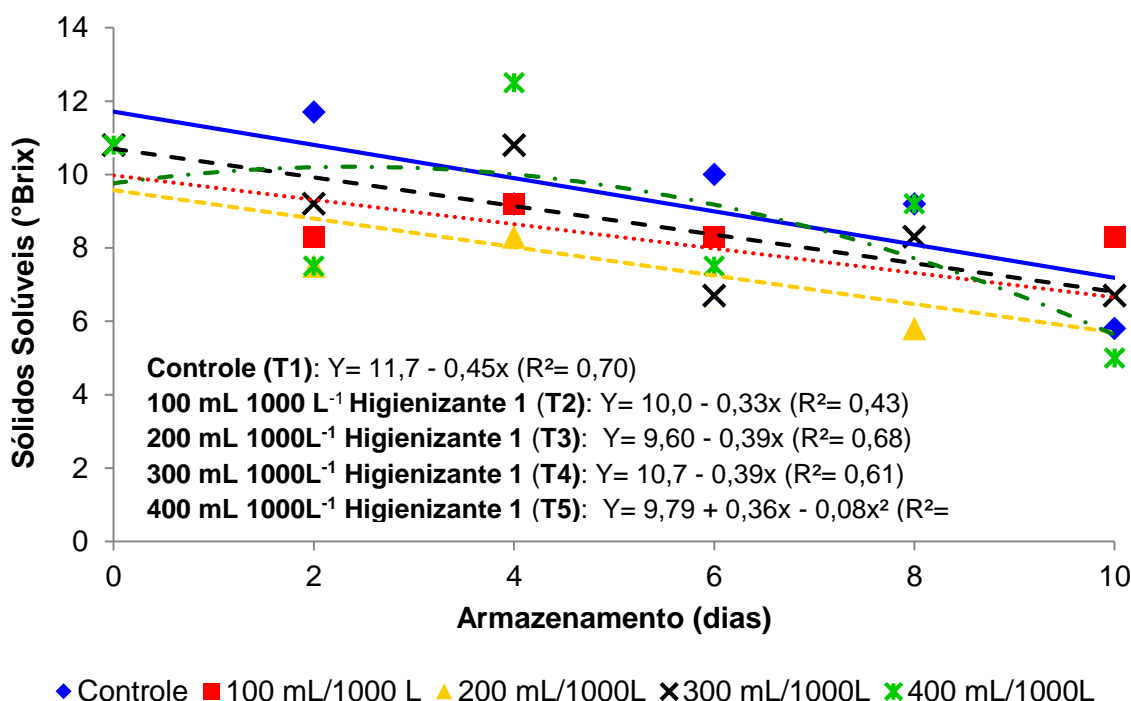
4.1.1 Análises físico-químicas e açúcar redutor em couve-folha 'Manteiga' minimamente processada:

Não houve não ocorreu diferença estatística na interação dos fatores estudados para perda de massa fresca e umidade.

Os teores de sólidos solúveis em couve-folha 'Manteiga' minimamente processada apresentaram diferenças significativas no tratamento, no período de armazenamento e na interação dos fatores em estudados (Figura 7).

Constatou-se diminuição dos teores de sólidos solúveis em todos os tratamentos, sugerindo que o Higienizante 1, não influenciou diretamente nos teores de sólidos solúveis, pois a maior dose (T5) não diferiu do controle (T1). A redução dos sólidos solúveis na couve-folha minimamente processada provavelmente ocorreu pelo consumo de carboidratos e ácidos orgânicos durante o processo respiratório (via glicólise).

Figura 7 - Teor de Sólidos Solúveis (°Brix) em couve-folha 'Manteiga' minimamente processada higienizada com diferentes doses do Higienizante 1 ao longo de 10 dias de armazenamento a 5 ± 1 °C e 85 ± 5 °C UR. Botucatu, 2017.



Os vegetais requerem um contínuo suplemento de energia, a qual é necessária para a conservação da permeabilidade das membranas, a organização celular e também para as reações metabólicas. Muito da energia requerida pelas frutas e hortaliças é suprida pela respiração aeróbica. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), os teores de sólidos solúveis são constituídos de 65 a 85 % de açúcares, como a glicose que é o principal substrato para a respiração, isso explica a diminuição destes teores durante o período de armazenamento.

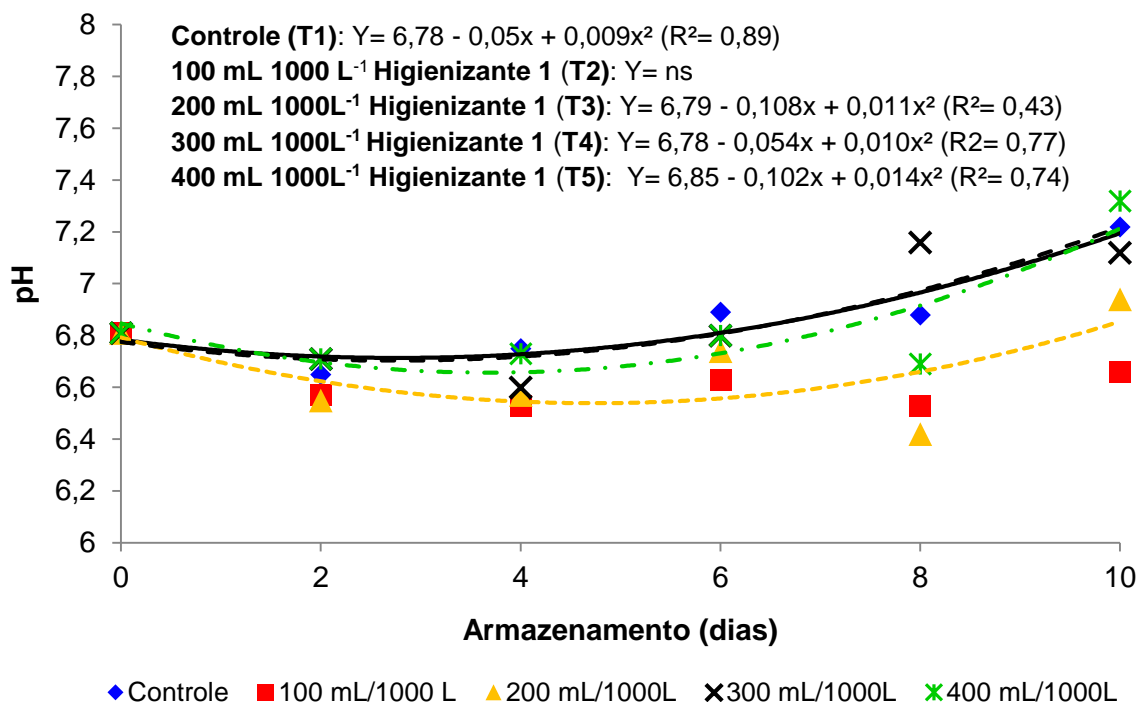
Roura et al. (2000) também observaram diminuição nos teores de sólidos solúveis de acelgas durante armazenamento a 4 °C, sendo que os maiores

decréscimos ocorreram nos três primeiros dias e em acelgas que sofreram maiores danos durante o processamento. Este decréscimo foi atribuído a um aumento da atividade respiratória.

Para valores de pH observa-se influência significativa para o tratamento, armazenamento e na interação (tratamento x armazenamento) dos fatores estudados (Figura 8).

O tratamento 2 (100 mL 1000 mL⁻¹ Higienizante 1) apresentou diminuição dos valores de pH, indicando possivelmente maior eficiência do agente higienizante. O tratamento 1 (controle), tratamento 3 (200 mL 1000mL⁻¹ Higienizante 1), tratamento 4 (300 mL 1000mL⁻¹ Higienizante 1) e tratamento 5 (400 mL 1000mL⁻¹ Higienizante 1) apresentaram tendência de aumento de pH durante o armazenamento. Carnelossi (2000), ao trabalhar com couve-folha minimamente processada observou que independente da embalagem utilizada, o pH tende a se elevar após o quinto dia de armazenamento a 5°C.

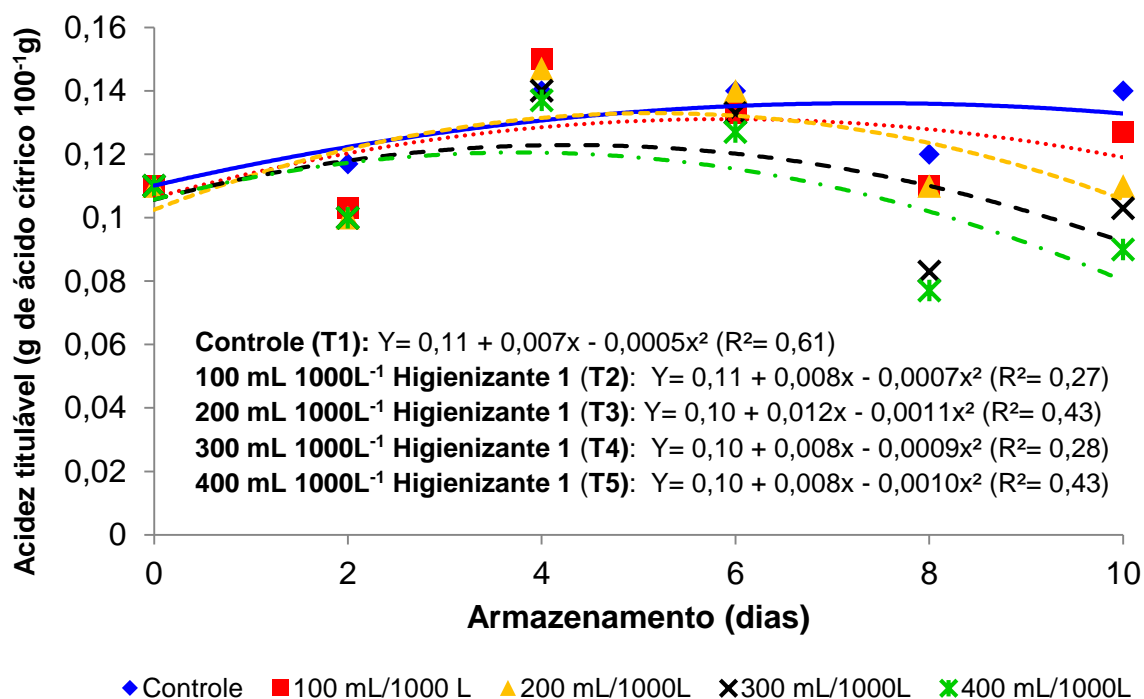
Figura 8 - Valores de pH em couve-folha 'Manteiga' minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 1, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.



Para os teores de acidez titulável na couve-folha minimamente processada ocorreu influência significativa para o tratamento, armazenamento e na interação. Observou-se aumento no tratamento 1 (controle) e tratamento 2 (100 mL 1000mL⁻¹ Higienizante 1) partindo de 0,110 g de ácido cítrico 100 g⁻¹ de polpa para 0,140 e 0,127 g de ácido cítrico 100 g⁻¹ de polpa, respectivamente, ao décimo dia de armazenamento (Figura 9).

Nunes et al. (2010) ao trabalhar com mandioquinha salsa minimamente processada tratadas com diferentes doses de higienizante, encontrou resultado oposto, a acidez não foi influenciada pelos fatores estudados (armazenamento e doses de hipoclorito de sódio).

Figura 9 - Teores de acidez titulável (g de ácido cítrico 100g⁻¹ polpa) em couve-folha 'Manteiga' minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 1 ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.

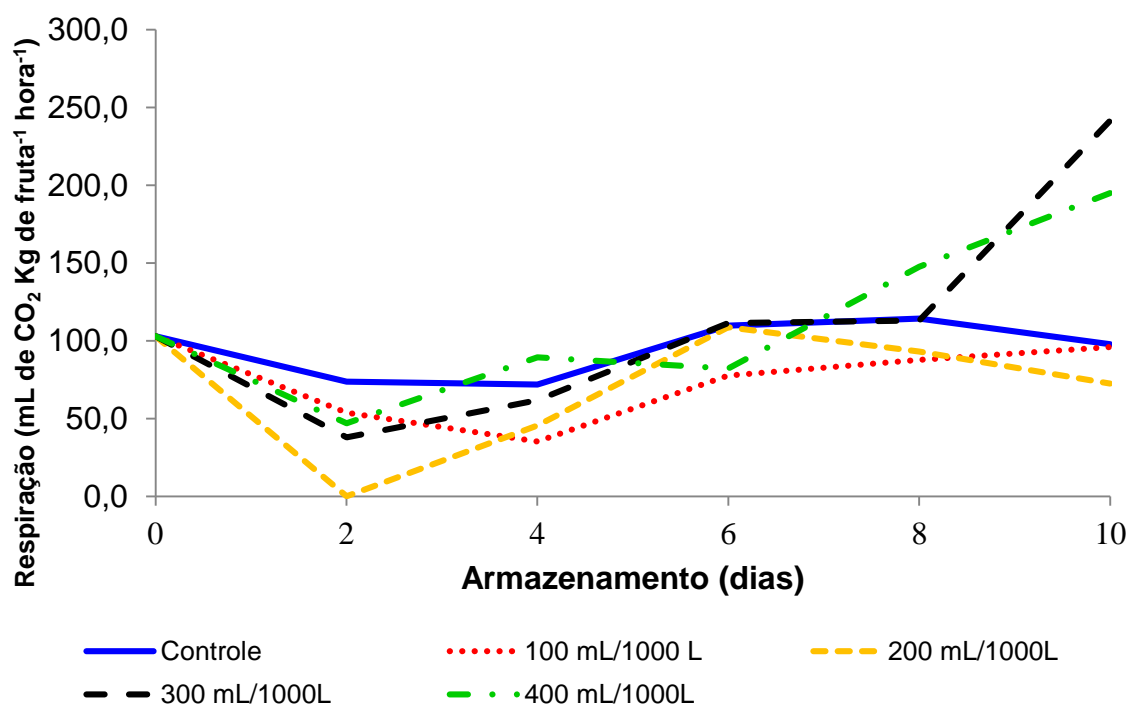


A atividade respiratória, da couve-folha 'Manteiga' minimamente processada com diferentes doses do Higienizante 1 estão apresentadas na Figura 10. A grande maioria das hortaliças são classificadas como não-climatéricas, mas no presente trabalho observou-se aumento da taxa respiratória ao quarto dia de armazenamento,

(tratamento 5 (89,33 mL de CO₂ Kg de fruta⁻¹ hora⁻¹)) e sexto dia de armazenamento (tratamentos 1, 3 e 4 (111,29 mL de CO₂ Kg de fruta⁻¹ hora⁻¹) e tratamento 2 (82,09 mL de CO₂ Kg de fruta⁻¹ hora⁻¹)), dependendo da dose do Higienizante 1 aplicada.

O descascamento e corte em pedaços de frutas e hortaliças são considerados danos mecânicos e resultam na ativação do metabolismo, manifestado pelo aumento na taxa respiratória e a produção de etileno (REYES, 1996). Esse comportamento também foi observado no presente trabalho.

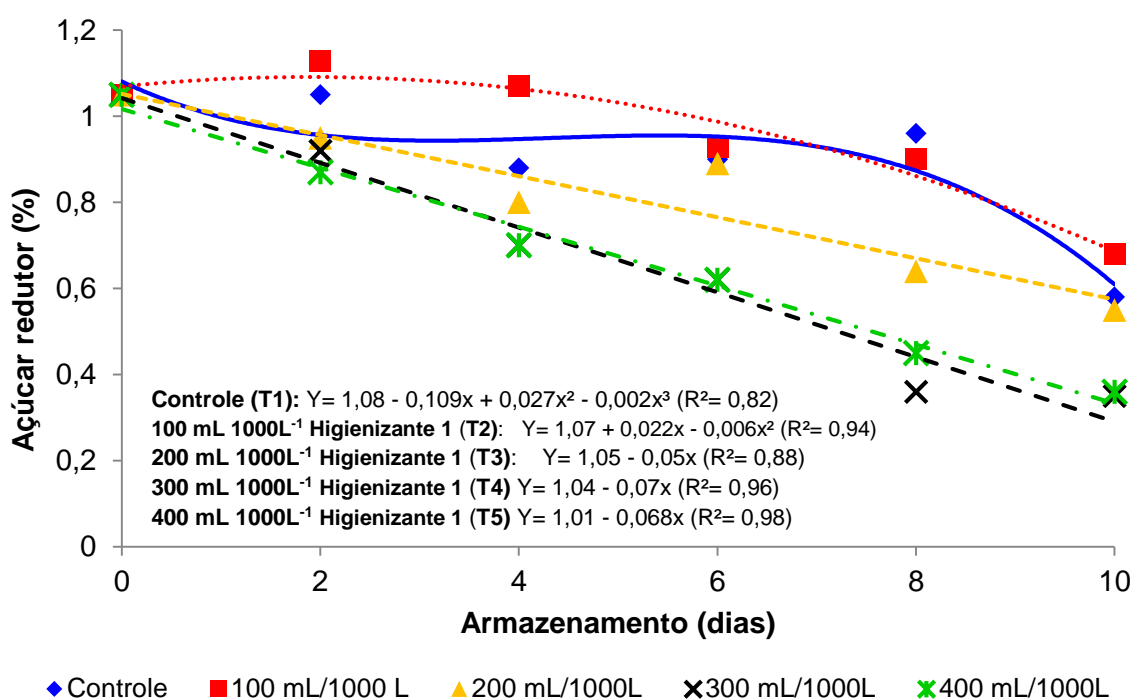
Figura 10 – Taxa respiratória (mL de CO₂ Kg de fruta⁻¹ hora⁻¹) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 1, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.



Os teores de açúcares redutores foram influenciados pela interação dos fatores estudados (Figura 11). De modo geral foi observada redução dos teores de açúcares redutores durante o período de armazenamento, em torno de 52 %. Essa redução também ocorreu em trabalho com couve-flor minimamente processado (FURLANETO et al., 2017), e segundo Kovalski (2018) esse comportamento pode estar ligado ao processamento.

Contudo a couve-folha minimamente processada tratada com as maiores doses do Higienizante 1 (400, 300 e 200 mL 1000L⁻¹) obtiveram maior perda, em média 65,1 %, 66,6 % e 47,6 %, respectivamente, evidenciando que nesses tratamentos ocorreu maior consumo dos açúcares provavelmente devido a maior taxa de respiração do produto, mesmo comportamento foi observado por Kovalski (2018). Enquanto o tratamento controle e o produto MP tratado com 100 mL 1000L⁻¹, apresentaram redução de 44,7 e 35,2 % açúcar redutor.

Figura 11 – Teores de açúcares redutores (%) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 1, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.



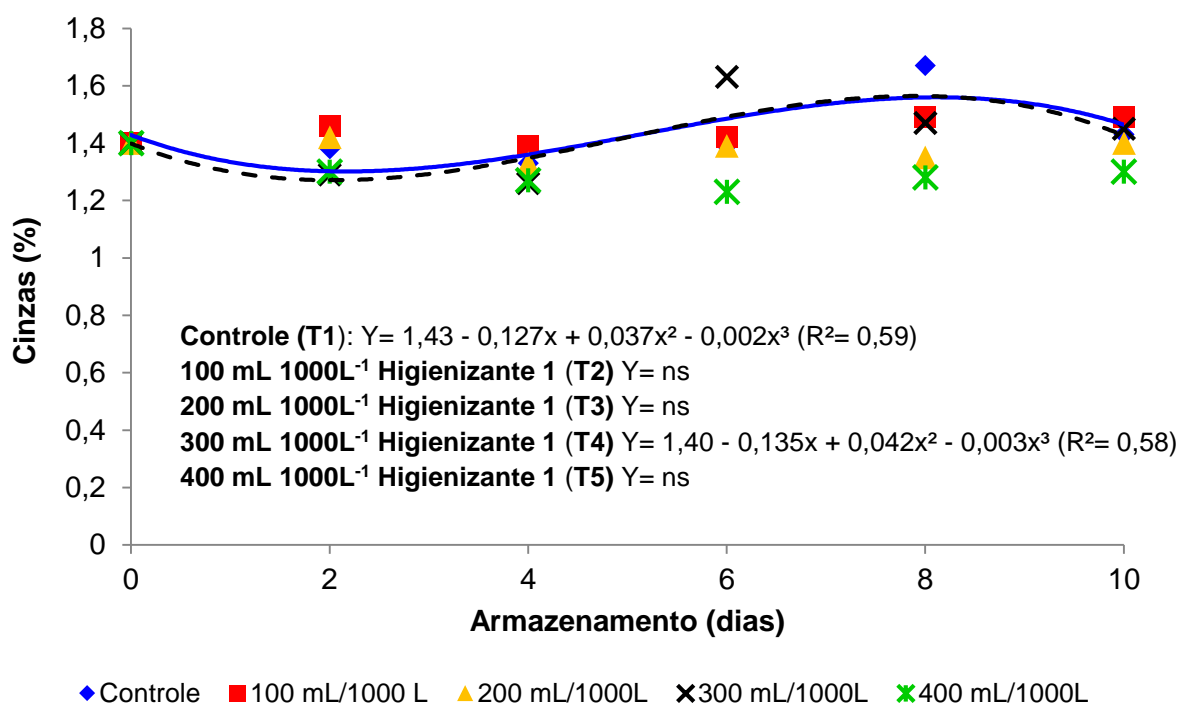
Para os valores de cinzas foram observadas diferenças estatísticas no tratamento, armazenamento e na interação dos fatores estudados (Figura 12).

Os valores de couve-folha ‘Manteiga’ estão em conformidade os apresentados na tabela brasileira de composição de alimentos (NEPA, 2011), onde descreve valores para a couve-folha ‘Manteiga’ crua de 1,3 %.

Entre os tratamentos o produto tratado com 100, 200 e 400 mL 1000L⁻¹ mantiveram os teores de cinzas durante todo o armazenamento. Houve oscilações no

tratamento controle e na couve-folha higienizada com 300 mL 1000L⁻¹, aumentando de 1,40 % para 1,43 e 1,45 % no décimo dia de armazenamento. Kovalski (2018) observou mesmo comportamento, discreto aumento do teor de cinzas ao final do período de armazenamento, em feijão-vagem minimamente processado.

Figura 12 – Cinzas (%) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 1, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.



4.1.2 Avaliação da cor instrumental:

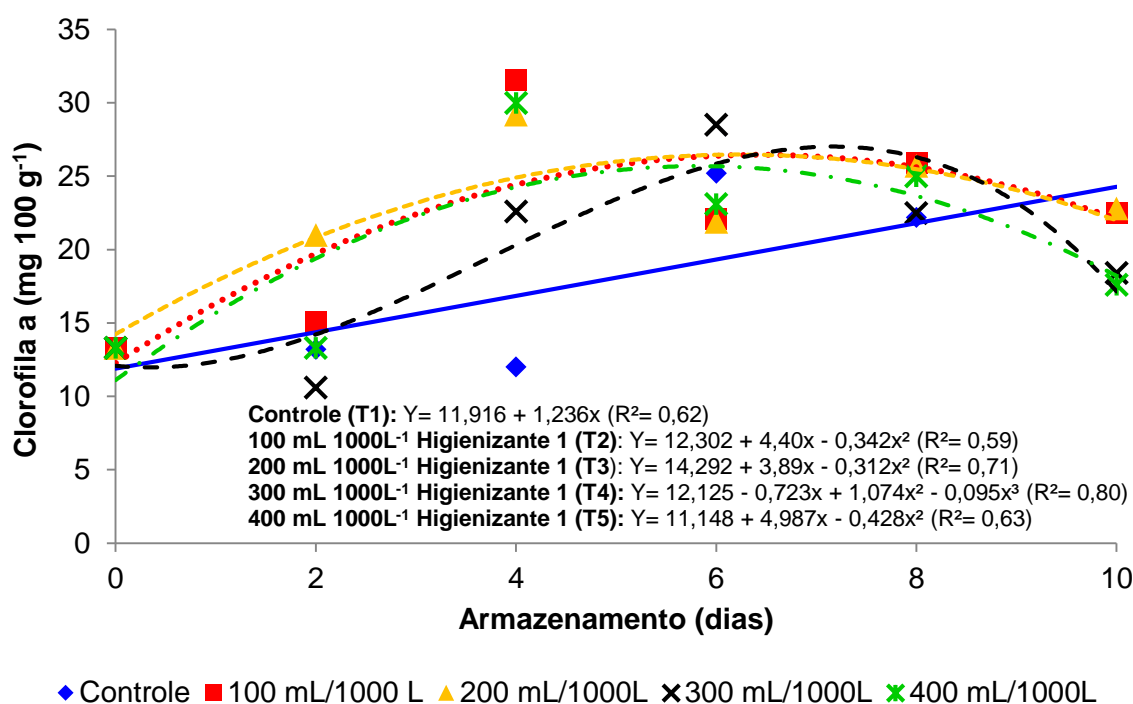
Não houve não ocorreu diferença estatística na interação dos fatores estudados para o croma, a luminosidade e o ângulo *Hue*.

4.1.3 Análises bioquímicas e enzimáticas em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada:

Não houve diferença estatística na interação dos fatores estudados para os teores de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante total, clorofila b, flavonoides e atividade da enzima peroxidase.

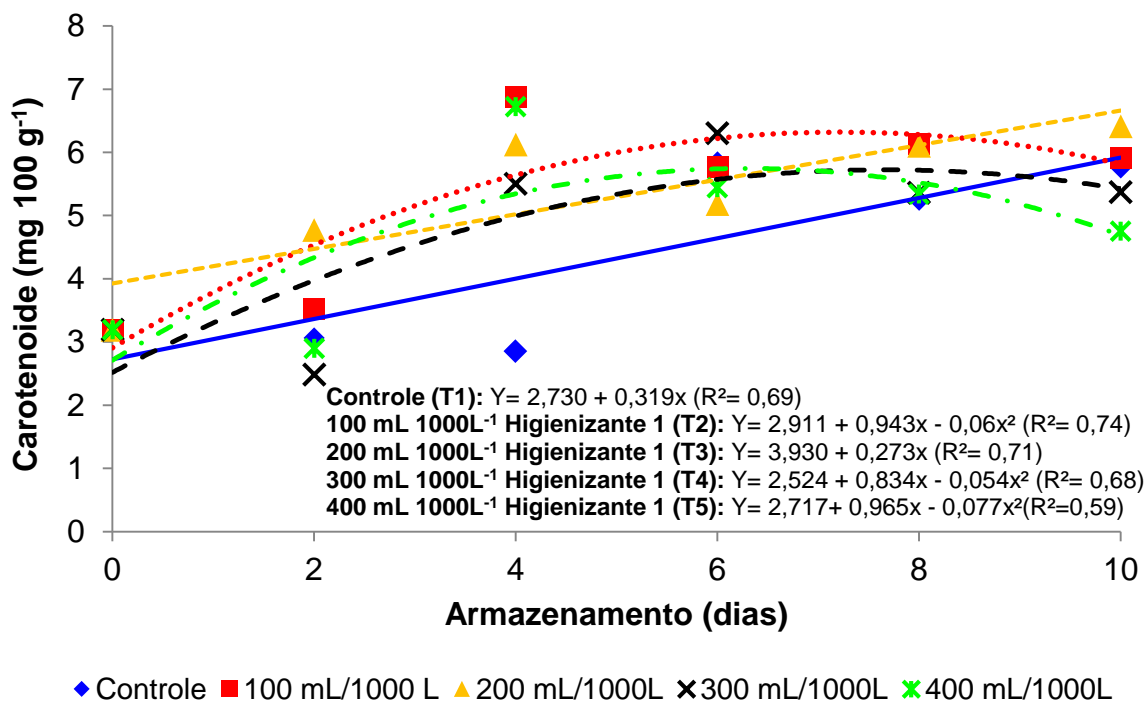
Para os teores de clorofila a (Figura 13) houve influência da interação dos fatores estudados (doses x armazenamento). O tratamento controle apresentou aumento linear crescente durante os 10 dias de armazenamento, partindo de 13,3 mg 100 g⁻¹ para 22,6 mg 100 g⁻¹. Enquanto nos tratamentos que foram higienizados com doses do Higienizante 1 tenderam a aumentar até o sexto dia com posterior redução aos 10 dias. Os menores teores de Clorofila a foram observados nas doses de 300 e 400 mL 1000 L⁻¹, 18,4 e 17,6 mg 100 g⁻¹. A degradação desses compostos em produtos processados se dá possivelmente pela ação de enzimas liberadas durante o processamento (HEATON et al., 1996).

Figura 13 - Clorofila a (mg 100 g⁻¹) em couve-folha 'Manteiga' minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 1, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.



Para os teores de carotenoides em couve-folha ocorreu diferença estatística para a interação (Figura 14), O tratamento controle e a couve-folha minimamente processada higienizada com 100 e 200 mL 1000 L⁻¹ apresentaram os maiores aumentos dos teores de carotenoide em 80,2, 85,6 e 100,9 % aos 10 dias de armazenamento. Os demais apresentaram menor aumento, 68,3 (300 mL 1000 L⁻¹) e 48,9 % (400 mL 1000 L⁻¹).

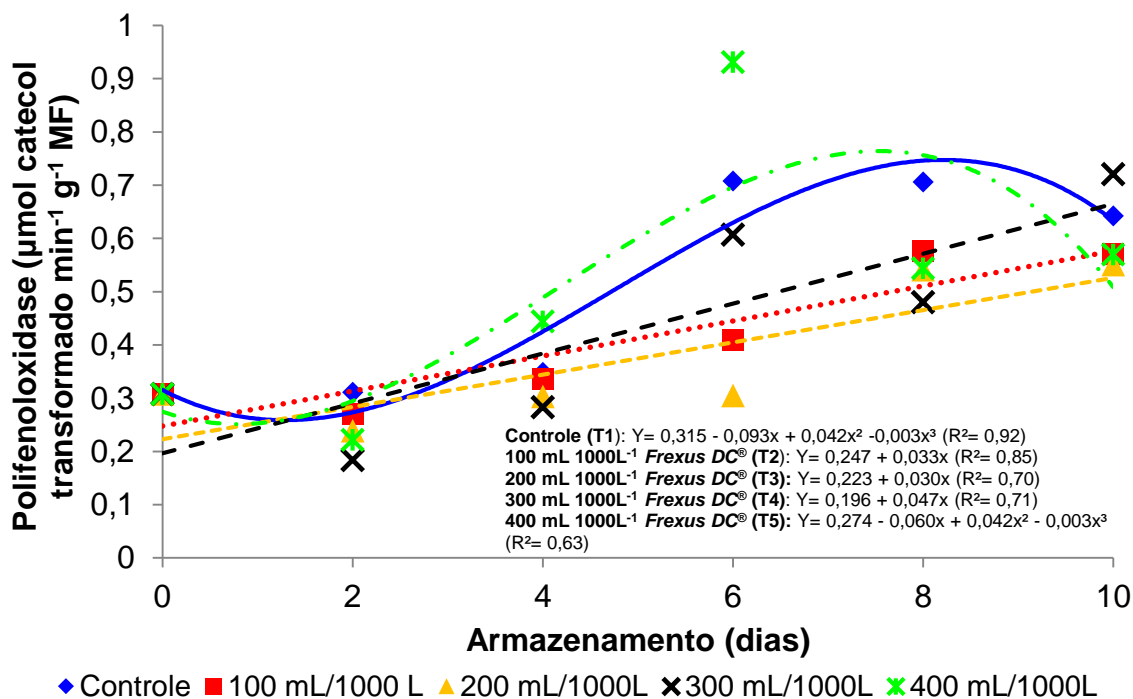
Figura 14 - Teores de carotenoides ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) em couve-folha 'Manteiga' minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 1, ao longo de 10 dias de armazenamento a $5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ e $85 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C UR}$. Botucatu, 2017.



A atividade da polifenoloxidase foi influenciada interação dos fatores estudados (Figura 15). Durante caracterização (dia 0) da couve-folha foi obtida atividade de $0,308 \mu\text{mol catecol transformado } \text{min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$, ocorrendo aumento da atividade em todos os tratamentos estudados durante o armazenamento. A maior atividade foi observada no tratamento 5 ($0,931 \mu\text{mol catecol transformado } \text{min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$). Esse aumento provavelmente está relacionado com o escurecimento da couve-folha minimamente processada, segundo Gasull; Becerra, (2006) o processamento ocorre maior exposição em contato com o oxigênio e com isso aumentando a polifenoloxidase e/ou as hortaliças de cor verde, o escurecimento pode estar relacionado diretamente com interação da polifenoloxidase, compostos fenólicos e oxigênio (KING, BOLIN, 1989; LAURILA, KERVINEN E AHVENAINEN, 1998; ROLLE, CHISM, 1987).

O tratamento 3 ($200 \text{ mL } 1000\text{L}^{-1}$ Higienizante 1), apresentou na média a menor atividade da enzima até o décimo dia de armazenamento ($0,57 \mu\text{mol catecol transformado } \text{min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$).

Figura 15 – Atividade da polifenoloxidase ($\mu\text{mol catecol transformado min}^{-1} \text{g}^{-1}$ MF) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 1, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5 ± 1 °C e 85 ± 5 °C UR. Botucatu, 2017.



4.1.4 Análises microbiológicas em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada:

Para a garantia da qualidade e da segurança da couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada, a água que foi utilizada no processo de higienização passou por análise microbiológica e os resultados apresentaram ausência de coliformes totais e termotolerantes em 100 mL de água atendendo as normas de potabilidade de água, estando de acordo com o Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5, de 03 de outubro de 2017, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017). De acordo com Bhagwat, (2006), as boas práticas de fabricação, controle de temperatura e qualidade de água de lavagem e enxágue devem ser praticados como forma de prevenção da contaminação dos vegetais minimamente processados.

Tabela 5 - Contagens de coliformes termotolerantes à 45°C e *Salmonella* das amostras de couve folha 'Manteiga' minimamente processada higienizada com diferentes doses de Higienizante 1, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.

Tempo	Couve-folha Minimamente Processada	Coliformes termotolerantes 45°C/g (NMP/g)	<i>Salmonella</i> (Ausente/25 g)
DIA 0	Caracterização da matéria-prima (couve folha 'Manteiga')	23	Ausente
	Controle (T1)	23	Ausente
	100 mL 1000L ⁻¹ Higienizante 1 (T2)	6,2	Ausente
DIA 5	200 mL 1000L ⁻¹ Higienizante 1 (T3)	44	Ausente
	300 mL 1000L ⁻¹ Higienizante 1 (T4)	9,1	Ausente
	400 mL 1000L ⁻¹ Higienizante 1 (T5)	23	Ausente
	Controle (T1)	1.100	Ausente
	100 mL 1000L ⁻¹ Higienizante 1 (T2)	Ausente	Ausente
DIA 10	200 mL 1000L ⁻¹ Higienizante 1 (T3)	3,6	Ausente
	300 mL 1000L ⁻¹ Higienizante 1 (T4)	7,6	Ausente
	400 mL 1000L ⁻¹ Higienizante 1 (T5)	Ausente	Ausente

Não foram detectados presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras de couve-folha minimamente processada, atendendo assim à legislação brasileira Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 que estabelece ausência para *Salmonella* em 25 g de produto e tolerância máxima para amostra de 5×10^2 NMP g⁻¹ ou UFC g⁻¹ de coliformes a 45 °C (BRASIL, 2001a). Tendo em vista os resultados da Tabela 5, observou a eficácia do Higienizante 1 em todas as doses aplicadas, observando-se redução das contagens dos termotolerantes desde o 5º dia, não ultrapassando o limite recomendado pela legislação brasileira, que limita em de 5×10^2 NMP g⁻¹.

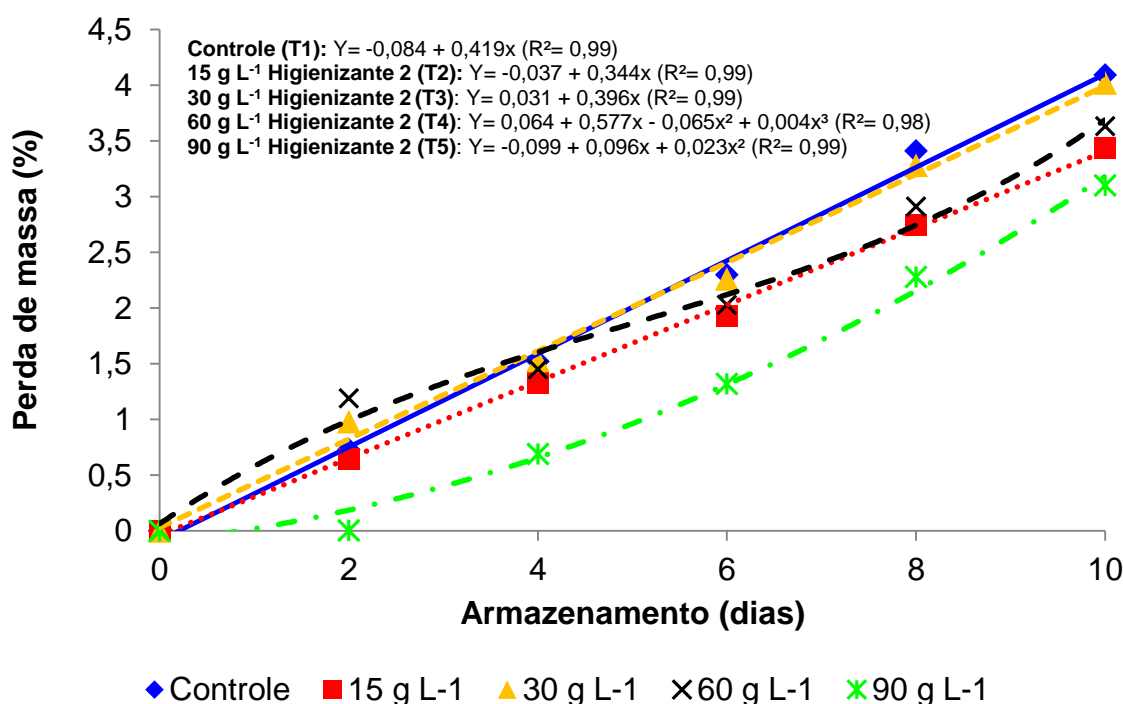
4.2 EXPERIMENTO II:

4.2.1 Análises físico-químicas e centesimais em couve-folha cv. 'Manteiga' minimamente processada:

Não houve diferença estatística na interação dos fatores estudados para os teores de umidade e cinzas.

Para a perda de massa fresca houve diferença estatística para o tratamento, o tempo de armazenamento e na interação dos fatores estudados (Figura 16). A perda de massa foi crescente ao longo do armazenamento para todos os tratamentos, onde o tratamento 5, apresentou a menor perda ao longo dos 10 dias (3,1 %). Já o tratamento 1 (controle) e o tratamento 3, apresentaram a maior perda (4,02 %).

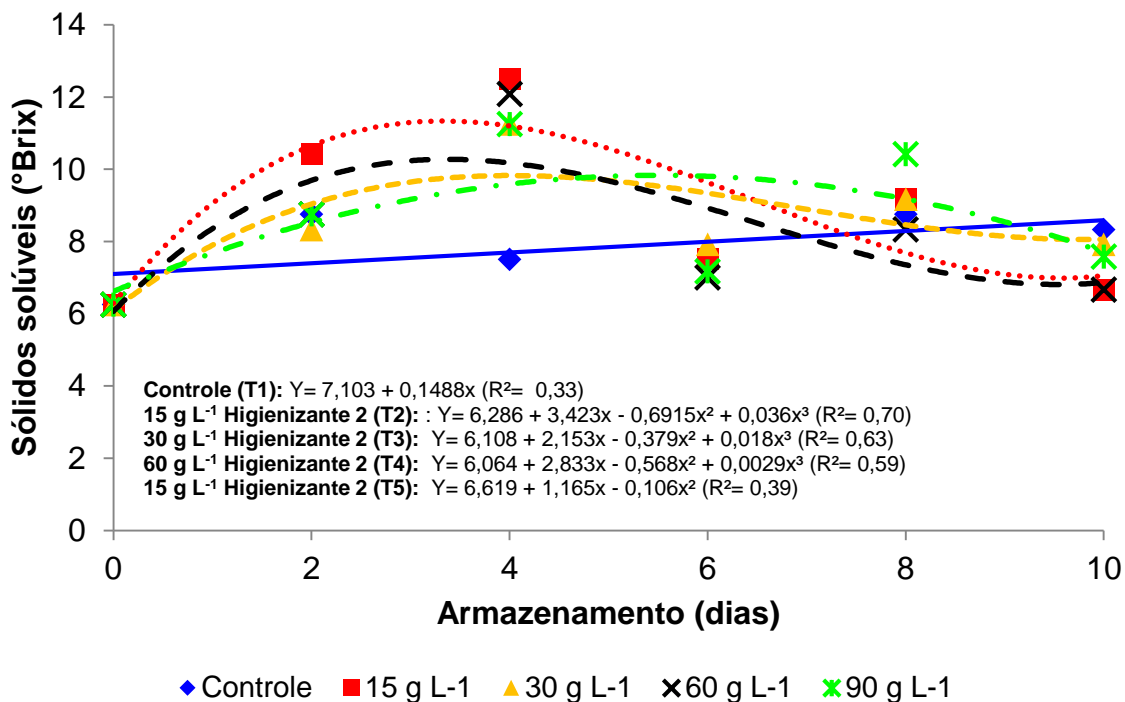
Figura 16 - Perda de massa fresca (%) em couve-folha 'Manteiga' minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5 ± 1 °C e 85 ± 5 °C UR. Botucatu, 2017.



Os teores de sólidos solúveis (Figura 17) da couve-folha 'Manteiga' minimamente processada apresentaram diferenças significativas no tratamento, período de armazenamento e na interação. Os tratamentos 2 e 4 apresentaram a menor elevação ao longo do armazenamento, partindo de 6,27 °Brix, para 6,67°Brix

no décimo dia. Esse comportamento possivelmente ocorreu devido maior taxa respiratória nesses produtos. De acordo com Beerli et al. (2004) os sólidos solúveis são reduzidos devido ao uso de substratos no metabolismo respiratório, sendo característica de reações catabólicas de senescência.

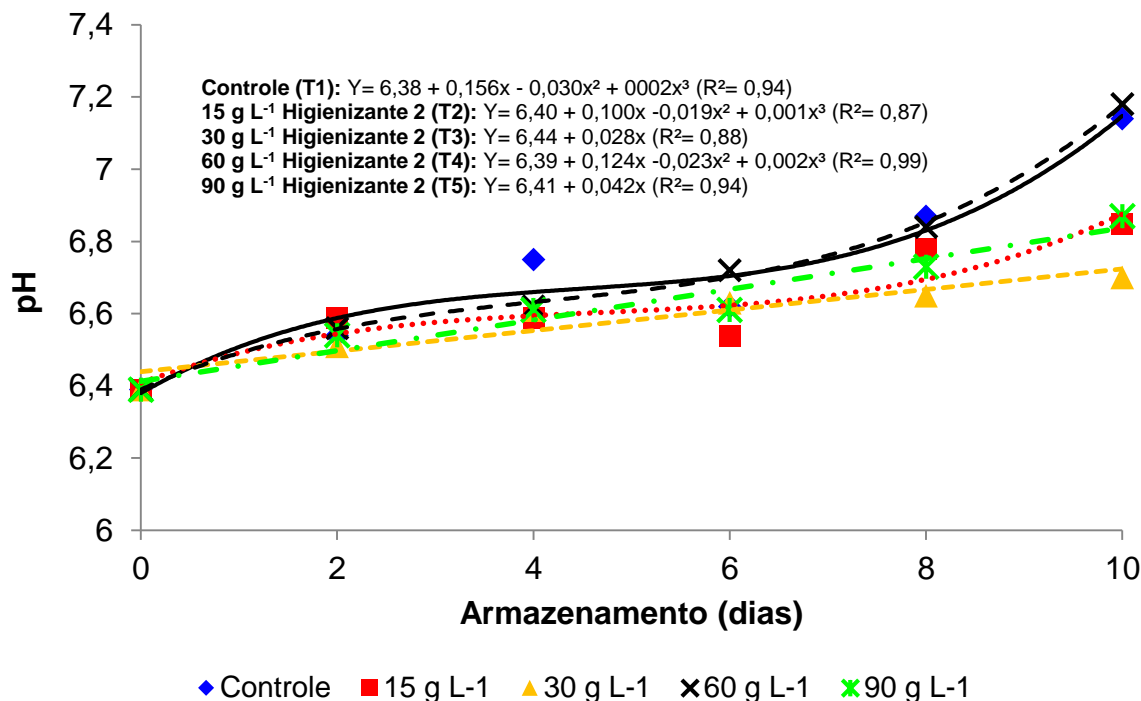
Figura 17 – Sólidos Solúveis (°Brix) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5 ± 1 °C e 85 ± 5 °C UR. Botucatu, 2017.



Para os valores de pH observa-se influência significativa para o tratamento, armazenamento e na interação dos fatores estudados (tratamento x armazenamento).

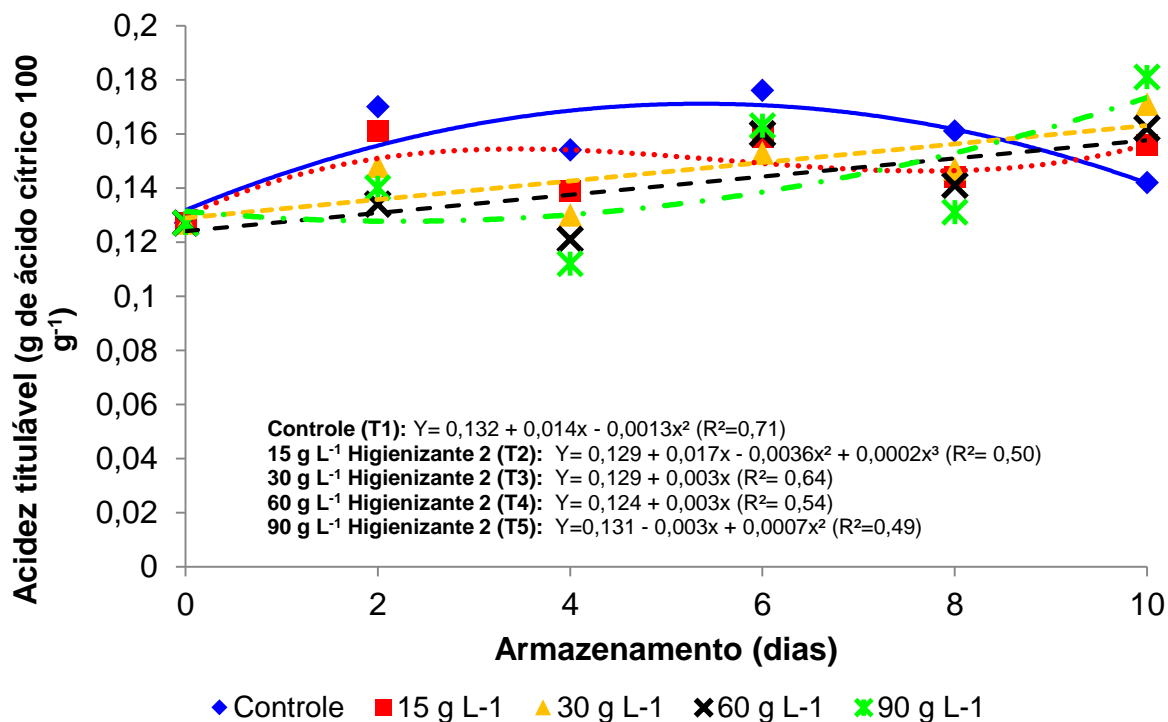
O tratamento 1 (controle) e o tratamento 4 (90 g L^{-1}), apresentaram aumento ao longo do armazenamento, de 6,39 no início do experimento, para 7,18 (Figura 18). Já o tratamento 3 (30 g L^{-1}) apresentaram maior estabilidade nos valores de pH, possivelmente indicando maior eficácia dos agentes higienizantes.

Figura 18 – Valores de pH em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5 ± 1 °C e 85 ± 5 °C UR. Botucatu, 2017.



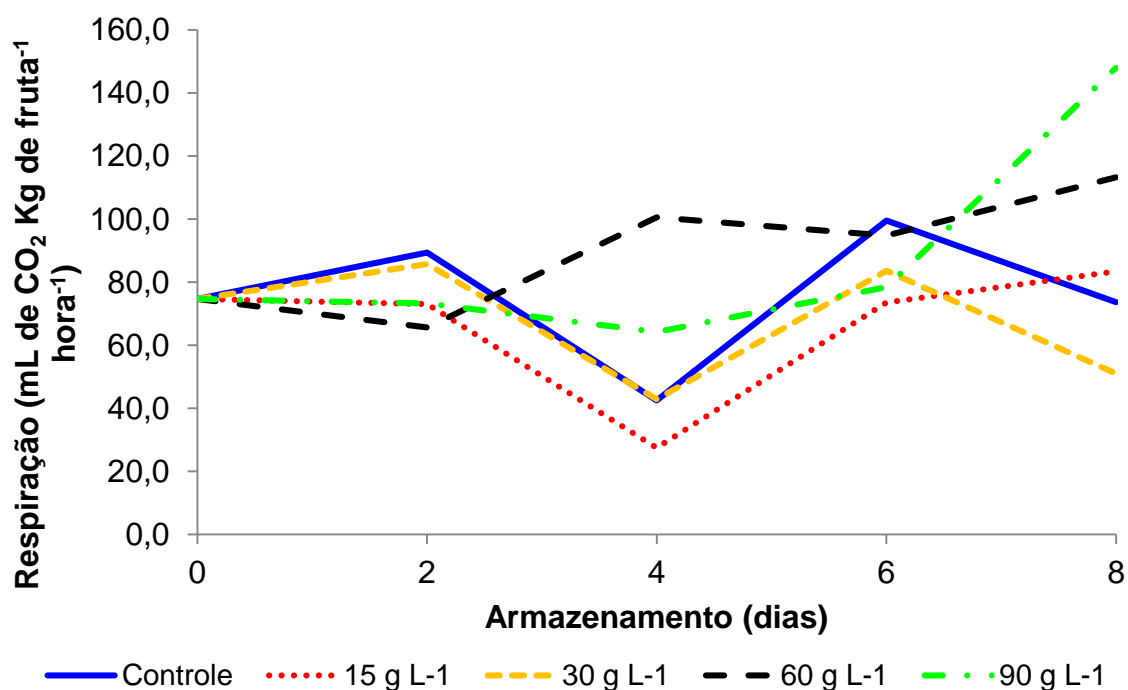
Para os teores de acidez titulável na couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada ocorreu influência significativa para o tratamento, armazenamento e na interação (Figura 19). Observou-se o maior aumento nos tratamentos 5 (90 g L⁻¹) e 3 (30 g L⁻¹) partindo de 0,127 g de ácido cítrico 100 g⁻¹ de polpa para 0,181 e 0,171 g de ácido cítrico 100 g⁻¹ de polpa, respectivamente, ao décimo dia de armazenamento. O tratamento 1 (controle), teve o menor aumento ao longo do armazenamento (10 dias). Nunes et al. (2010) observou um resultado oposto ao trabalhar com em mandioquinha salsa minimamente processada tratadas com diferentes doses de hipoclorito de sódio, a acidez não foi influenciada por fatores estudados (doses x armazenamento).

Figura 19 – Teores de acidez titulável (g de ácido cítrico 100 g⁻¹) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.



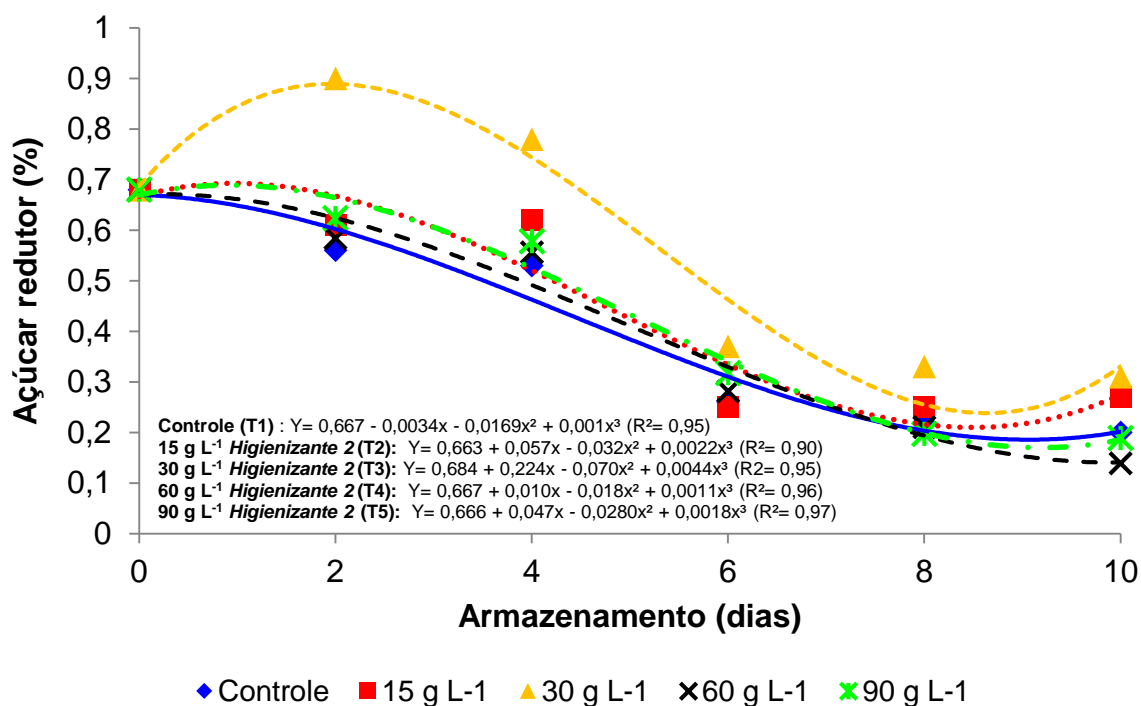
Na Figura 20 observa-se a taxa respiratória da couve minimamente processada higienizada com diferentes doses do Higienizante 2. Mesmo a couve sendo classificada como não-climatérica, quando processada foi possível observar um aumento na taxa respiratória, ao sexto dia para o tratamento controle e 30 g L⁻¹ (99,55 e 83,58 mL de CO₂ Kg de fruta⁻¹ hora⁻¹) e nos demais tratamentos o aumento ocorreu ao oitavo dia de armazenamento. Possivelmente o processamento (injúrias) fez com que aumentasse o metabolismo, causando o evento climatérico (REYES, 1996, SASAKI, 2005), mesmo comportamento foi descrito por Kovalski (2018) em feijão-vagem.

Figura 20 - Taxa respiratória (mL de CO₂ Kg de fruta⁻¹ hora⁻¹) em couve-folha 'Manteiga' minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.



Na Figura 21 estão apresentados os valores de açúcares redutores para a couve-folha 'Manteiga', higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2. Todos os tratamentos tiveram um declínio dos teores de açúcares redutores ao longo do armazenamento. O tratamento 4 (60 g L⁻¹) apresentou a maior queda, partindo de 0,68 % na caracterização da matéria-prima, para 0,139 % ao décimo dia, sugerindo que nesse tratamento ocorreu maior consumo dos açúcares devido ao aumento do metabolismo (respiração).

Figura 21 – Valores do açúcar redutor (%) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5 ± 1 °C e 85 ± 5 °C UR. Botucatu, 2017.

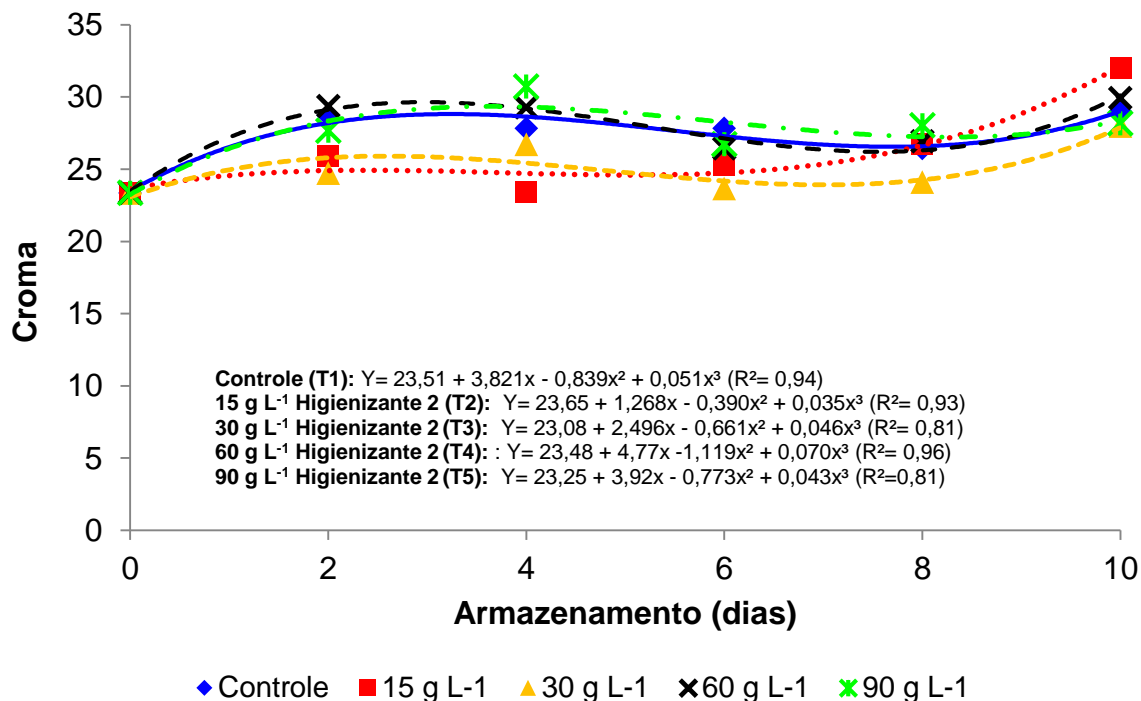


4.2.2 Avaliação da cor instrumental:

Não houve diferença estatística na interação dos fatores estudados para a luminosidade e o ângulo *Hue*.

Os valores de croma foram influenciados pelo o tratamento, armazenamento e pela interação dos fatores estudados (Figura 22). De maneira geral observou-se aumento dos valores do croma em todos os tratamentos estudados, partindo de 23,37 na caracterização da couve-folha minimamente processada e chegando ao décimo dia com 28,19 (tratamento 1, 3 e 5), 32,05 (tratamento 2) e 29,93 (tratamento 4).

Figura 22 - Valores de croma em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5 ± 1 °C e 85 ± 5 °C UR. Botucatu, 2017.

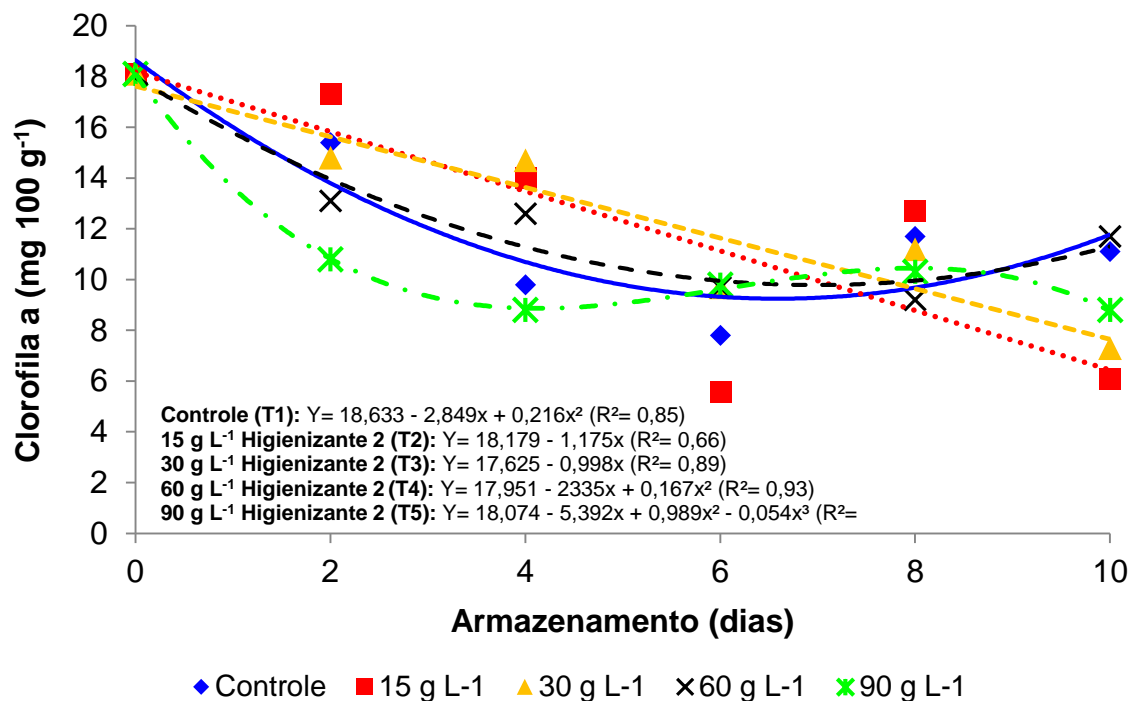


4.2.3 Análises bioquímicas e enzimáticas em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada:

Não ocorreu diferença estatística na interação dos fatores estudados para os teores de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante total, clorofila b, flavonoides e atividade da enzima peroxidase.

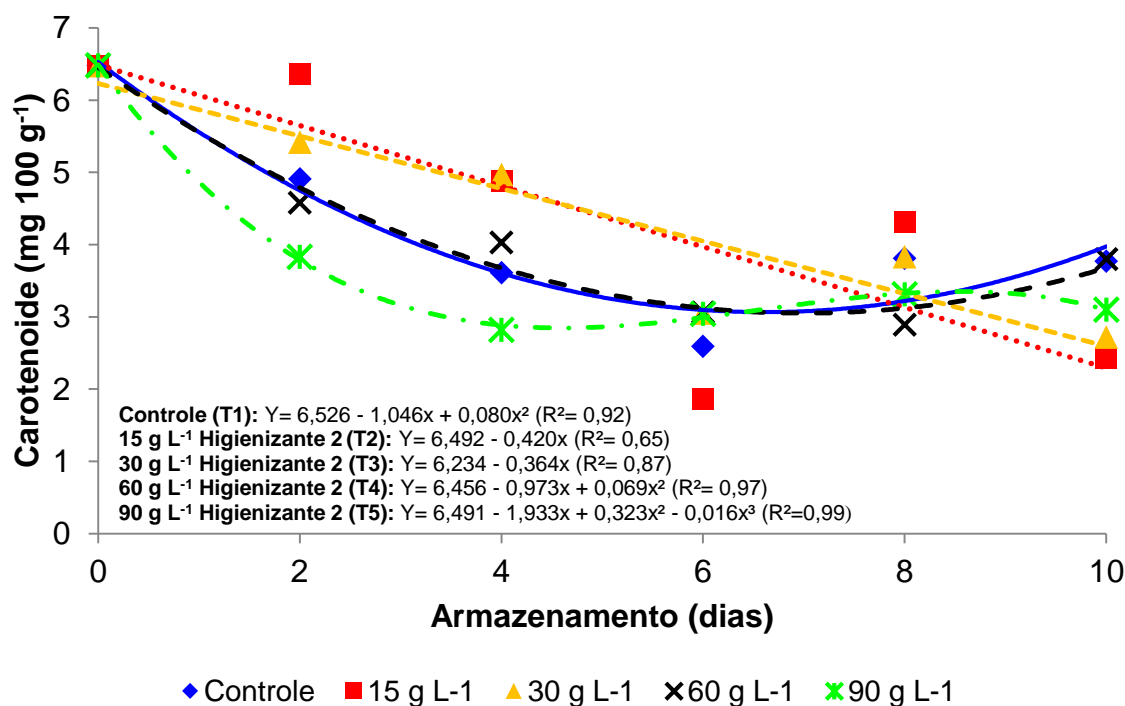
Nos teores de clorofila a da couve-folha minimamente processada (Figura 23) houve influência da interação dos fatores estudados, de maneira geral ocorreu redução dos pigmentos durante o armazenamento em todos os tratamentos estudados.

Figura 23 – Clorofila a ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a $5\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ e $85\pm 5 \text{ }^\circ\text{C UR}$. Botucatu, 2017.



Nos teores de carotenoides da couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada ocorreu diferença estatística na interação dos fatores (Figura 24), de maneira geral ocorreu redução dos teores de carotenoides, contudo o tratamento controle ao final dos 10 dias de armazenamento apresentou o maior teor ($3,77 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). Podendo-se afirmar que para a manutenção desse pigmento o Higienizante 2 não foi efetivo, já que o melhor resultado foi observado no controle. Colleta (2009), também observou redução dos carotenoides durante o armazenamento de couve.

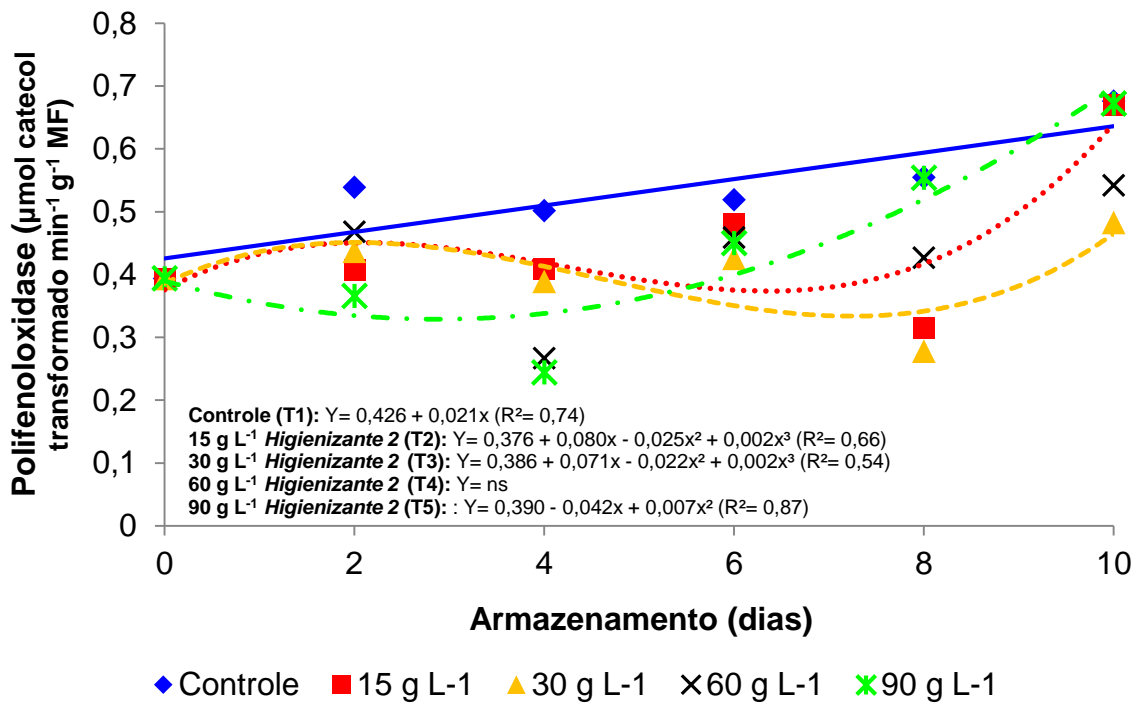
Figura 24 – Teores de carotenoides (mg 100 g⁻¹) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.



A atividade da polifenoloxidase da couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada (Figura 25) apresentou diferença estatística na interação dos fatores estudados. De maneira geral, houve aumento da atividade enzimática durante o armazenamento em todos os tratamentos estudados, exceto na dose 60 g L⁻¹, que manteve a atividade durante os 10 dias. A menor atividade ao final do armazenamento foi observada na couve-folha minimamente processada higienizada com 30 g L⁻¹, 0,48 μmol catecol transformado min⁻¹ g⁻¹ MF. Kovalski (2018) em trabalho com feijão-vagem minimamente processado, observou aumento da atividade enzimática da polifenoloxidase em todas as doses do higienizante (ácido peracético).

As maiores atividades da enzima foi observada na dose de 15 g L⁻¹, 90g L⁻¹ e no tratamento controle, 0,67 μmol catecol transformado min⁻¹ g⁻¹ MF, 0,67 μmol catecol transformado min⁻¹ g⁻¹ MF e 0,68 μmol catecol transformado min⁻¹ g⁻¹ MF, respectivamente.

Figura 25 – Atividade da enzima polifenoloxidase ($\mu\text{mol catecol transformado min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada higienizadas com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a $5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ e $85 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C UR}$. Botucatu, 2017.



4.2.4 Análises microbiológicas em couve-folha ‘Manteiga’ minimamente processada:

O Higienizante 2 mostrou-se eficiente em todas as doses aplicadas, observando-se redução das contagens dos termotolerantes desde o 5º dia, não ultrapassando o limite recomendado pela legislação brasileira, que limita em de 5×10^2 NMP g^{-1} (Tabela 6). Não foi detectada a presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras de couve-folha cv. ‘Manteiga’ minimamente processada, atendendo assim à legislação brasileira, a qual estabelece ausência para *Salmonella* em 25 g de produto.

Tabela 6 - Contagens de coliformes termotolerantes à 45°C e *Salmonella* das amostras de couve-folha 'Manteiga' minimamente processada higienizada com diferentes doses do Higienizante 2, ao longo de 10 dias de armazenamento a 5±1 °C e 85±5 °C UR. Botucatu, 2017.

Tempo	Couve-folha Minimamente Processada	Coliformes termotolerantes 45°C/g (NMP/g)	<i>Salmonella</i> (Ausente/25 g)
DIA 0	Caracterização da matéria-prima (couve folha 'Manteiga')	40	Ausente
	Controle (T1)	40	Ausente
	15 g L ⁻¹ Higienizante 2 (T2)	5	Ausente
DIA 5	30 g L ⁻¹ Higienizante 2 (T3)	9	Ausente
	60 g L ⁻¹ Higienizante 2 (T4)	9,5	Ausente
	90 g L ⁻¹ Higienizante 2 (T5)	23	Ausente
	Controle (T1)	800	Ausente
	15 g L ⁻¹ Higienizante 2 (T2)	20	Ausente
DIA 10	30 g L ⁻¹ Higienizante 2 (T3)	Ausente	Ausente
	60 g L ⁻¹ Higienizante 2 (T4)	8	Ausente
	90 g L ⁻¹ Higienizante 2 (T5)	2,4	Ausente

5 CONCLUSÃO

Nas condições em que foi realizado o seguinte trabalho pode-se concluir que:

- ✓ No Experimento I, o tratamento 2 (100 mL 1000 L⁻¹ Higienizante 1) foi mais eficaz na manutenção das características físico-químicas e dos compostos bioativos couve-folha 'Manteiga' minimamente processada em todo o período de armazenamento.
- ✓ No experimento II, o tratamento 3 (30 g L⁻¹ do Higienizante 2), se mostrou mais eficaz na manutenção das características físico-químicas na couve-folha cv. 'Manteiga' minimamente processada.

REFERÊNCIAS

ALVES, J. A.; VILAS BOAS, E. V. B.; VILAS BOAS, B. M.; SOUZA, E. C. Qualidade de produto minimamente processado à base de abóbora, cenoura, chuchu e mandioquinha-salsa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n. 3, p. 625-634, 2010.

ANDRADE, N. J.; MARTYN, M. E. L. Limpeza e sanitização na indústria de alimentos. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 1996. 39p.

ANDREWS, W. H.; FLOWERS, J. S.; BAILEY, J. S. Salmonella. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. **American Public Health Association**. Washington, 4^a ed., p.357-380, 2001.

AQUINO, A. C. M. S.; SILVA, M. H. M.; ROCHA, A. K. S.; CASTRO, A. A. Estudo da influência de diferentes tempos e métodos de cocção na estabilidade dos teores de clorofila e ácido ascórbico em brócolis (*Brassica oleraceae*). **Scientia Plena**, São Cristóvão, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2011.

ARENSTEIN, I. R. Dióxido de cloro estabilizado em solução aquosa: coadjuvante tecnológico de alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 107, p. 32-33, 2003.

ARRUDA, M. C.; JACOMINO, A. P.; KLUGE, R. A.; AZZOLINI, M. Temperatura de armazenamento e tipo de corte para melão minimamente processado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 74-76, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry international**. 18 ed. Gaithersburg, 2005. 1015p.

AWAD, A. M.; JAGER, A.; WESTING, L. M. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 83, n. 3-4, p.249-263, mar. 2000. Elsevier BV.

BRACKMANN, A.; SESTARI, I.; STEFFENS, C. A.; GIEHL, R. F. H. Indução da perda de massa da matéria fresca e a ocorrência de distúrbios fisiológicos em maçãs 'Royal Gala' durante o armazenamento em atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.32, n.2, p.87-92, 2007.

BALKAYA A; YANMAZ R. 2005. Promising kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) populations from Black Sea region, Turkey. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science** 33: 1-7.

BANWART, G. J. **Basic food microbiology**. 2aed. New York, Van Nostrand Reinhold. 1989, 774p.

BEN-YEHOSHUA, S. Individual seal-packing of fruit and vegetables in plastic film: a new postharvest technique. **HortScience**, v. 20, n. 1, p. 32-37, 1985.

BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. F. A. Efeito do Cloro na Água de Lavagem para Desinfecção de Alface Minimamente Processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 2001, vol.21, n.2, p. 197-201.

BLEINROTH, E.W.; ZUCHINI, A.G.; POMPEO, R.M. **Determinação das características físicas e mecânicas de variedade de abacate e sua conservação pelo frio**. Coletânea ITAL, Campinas, v.7, n.1, p.29-81, 1976.

BEZERRA, A. P.; VIEIRA, A. V.; VASCONCELOS, A. A.; ANDRADE, A. P. S.; INNECCO, R.; MATTOS, S. H. **Desempenho de plântulas de couve (*Brassica oleracea* var. *Acephala*) tratadas com cera de carnaúba hidrolisada**. Horticultura Brasileira, v. 23. p. 395, 2005 (Suplemento).

BHAGWAT, A. A. Microbiological safety of fresh-cut produce: where are we now? In: MATTHEWS, K. R. (Ed). **Microbiological of Fresh Produce**. American Society for Microbiology Press, Washington, DC, USA, 2006.

BRACKETT, R. E. Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, Trumbull, v.10, n.3, p.195-206, 1987.

BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA). **Resolução – RDC nº77, 16 mar. 2001a**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao>>. Acesso em 10 abril de 2019.

BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA). **Resolução – RDC nº12, 2 jan. 2001b**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao>>. Acesso em 20 abril de 2019.

BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA). **Resolução – RDC nº275, 30 set. 2003**. Disponível em:<<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao>>. Acesso em 20 de abril de 2019.

BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA). **Resolução – RDC nº2, 8 jan. 2004a**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao>> Acesso em: 20 de abril de 2019.

BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA). **Resolução – RDC nº216,15 set. 2004b**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao>>. Acesso em: 20 de abril de 2019.

BRASIL. **Métodos físicos e químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

BRENNER, D.J.; FARMER III, J. J. Family I. Enterobacteriaceae. In: BRENNER, D. J., KRIEG, N. R.; STALEY, J. T. (Eds). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, Ed. 2. Vol. 2. New York: Springer Science+Business Media Inc, 2005.p.587-607.

BUCKLEY, M.; COWAN, C.; MCCARTHY, M. The convenience food market in Great Britain: Convenience food lifestyle (CFL) segments. *Appetite*, London, v. 49, n. 3, p. 600- 617, 2007.

CARNELOSSI, M. A. G. **Fisiologia pós-colheita de folhas de couve (*Brassica oleracea* cv. *Acephala*) minimamente processadas**. 2000. 81 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CARVALHO, C. et al – Anuário Brasileiro de Hortaliças 2016 – Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2016. 64p.

CENCI, S. A.; GOMES, C. A. O.; ALVARENGA, A. L. B.; JUNIOR, M. F. **Boas Práticas de Processamento Mínimo de Vegetais na Agricultura Familiar**. In: Fenelon do Nascimento Neto. (Org.). *Recomendações Básicas para a Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação na Agricultura Familiar*. 1ª ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006, p. 59-63.

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

COLLETA, R. C. L. D. **Respostas fisiológicas de cenoura, repolho roxo e couve minimamente processados isolados ou em combinação**. 2009. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária: Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças, 2012. Disponível em: www.cnph.embrapa.br. Acesso em: 10 de Janeiro de 2019.

FÁVARO, S. P. Cor de feijão vagem fresco e processado após aplicação de cálcio. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n. 3, p.561-563, 2000.

FELKEY, K. D. et al. Optimization of chlorine treatments and the effects on survival of *Salmonella* spp. on tomato surfaces. In: ANNUAL MEETING OF IAFP (International Association for Food Protection), 90th., 2003, New Orleans. **Program and Abstract Book...** New Orleans, 2003. Abstract P212, p. 132.

FILGUEIRA, F. A. R. – Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2000.

FILHO, S. S. F.; SAKAGUTI, M. I. Comportamento cinético do cloro livre em meio aquoso e formação de subprodutos da desinfecção. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2008, 13:198- 206.

FRANZIN, M. **Biguanida Polimérica Versatilidade e Diversificação em um só Produto**. 1988. Arch Química Brasil Ltda. Salto – SP. Disponível em: http://www.opportuna.com.br/produtos/arquivos/Biguanida_Arch.pdf Acesso em: 01 de maio de 2019.

FURLANETO, K. A.; MARIANO-NASSER, F. A. C.; RAMOS, J. A.; LUNDGREN, G. A.; NUVOLARI, C. M.; LIMA, P. F. F. S.; NASSER, M. D.; VIEITES, R. L. Atmosfera modificada na conservação e qualidade da couve-flor minimamente processada. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 6, p. 3549-3562, 2017.

GASULL, E.; BECERRA, D. Caracterización de Polifenoloxidase Extraída de Pêra (CV. Packam's Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious). **Información Tecnológica**. 17: 69-74, 2006

GOMES, C. A. O.; ALVARENGA, A. L. B.; JUNIOR, M. F.; CENCI, S. A. **Hortaliças Minimamente Processadas**. Brasília, D.F.: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, 34 p. (Coleção Agroindústria Familiar).

GUIMARÃES, A. M.; ALVES, E. G. L.; FIGUEIREDO, H. C. P.; COSTA, G. M.; RODRIGUES, L. S. Freqüência de enteroparasitas em amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Lavras, MG. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 5, n. 36, p. 621-623, 2003.

HEATON, J. W.; MARANGONI, A. G. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v.7, p.8- 15, 1996.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

ISASA, M. E. T. **Las hortalizas como fuentes de nutrientes para la salud**. Madrid. Disponível em: www.portalbesana.es/documentos/documentacion/congreshorticmedit/nutrient.salut.pdf. Acesso em: 03 de fevereiro de 2019.

IZUMI, H.; WATADA, A. E.; DOUGLAS, W. Low oxygen atmospheres affect storage quality of zucchini squash slices treated with calcium. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 2, p. 317-321, 1996.

JAQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C.; ÁVILA, E. G.; KRUMREICH, F.; RICKIES, S. L.; RIBEIRO, M. G. M. Sanitização com produto à Base de Cloro e com Ozônio: Efeito Sobre Compostos Bioativos de Amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv. Tupy. **Revista Ceres** [on line] 2015, 62.

KAR, M. & MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, p. 315-319, 1976.

KE, D.; SALTVEIT, M. E., Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. **Physiologia Plantarum**, [s.l.], v. 76, n. 3, p. 412-418, 1989.

KING, A. D.; BOLIN, H.R. Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. **Food Technology**, [s.l.], v. 43, n. 2, p.132-135, 1989.

KLUGE, R. A.; COSTA, C. A.; VITTI, M. C. D.; ONGARELLI, M. G.; JACOMINO, A. P.; MORETTI, C. L. Armazenamento refrigerado de beterraba minimamente processada em diferentes tipos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 263-270, 2006.

KLUGE, R. A.; GEERDINK, G. M.; TEZOTTO-ULIANA, J. V.; GUASSI, S. A. D.; ZORZETO, T. Q.; SASAKI, F. F. C.; COSTA, S. M. Qualidade de pimentões amarelos

minimamente processados tratados com antioxidantes, **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 35, n. 2, p. 801-812, 2014.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: Apha, 2001. p. 69-80.

KOVALSHI, T. R. **Qualidade do Feijão-vagem Minimamente Processado Higienizado com Ácido Peracético e Hipoclorito de Sódio**. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas (Campus de Botucatu), Botucatu, 2018.

LAURILA, E.; KERVINEN, R.; AHVENAINEN, R. The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetables and fruits. **Postharvest News Information**, [s.l.], v.9, n. 4, p.53-66, 1998.

LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G.; OLIVEIRA, A. M. de. Polyamines and peroxidase activity in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under saline stress. *Sci. Agrícola*, v. 56, n. 1, 1999.

LINDER, S. A proposal for the use of standardized methods for chlorophyll determinations in ecological and ecophysiological investigations. **Physiologia Plantarum**, [s.l.], v. 32, n. 2, p.154-156, out. 1974. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1974.tb03743.x>.

MARIANO-NASSER, F. A. de C.; BORGES, C. V.; RAMOS, J. A.; NASSER, M. D.; LUNDGREN, G. A.; FURLANETO, K. A.; KOVALSKI, T. T.; VIEITES, R. L. Bioactive compounds and enzymatic activity in minimally processed eggplant packed under active modified atmosphere. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina - PR, v. 40, n. 1, p. 139-148, jan./fev. 2019.

McNEAL, T. P.; HOLLIFIELD, H. C.; DIACHENKO, G. W. Survey of trihalomethanes and other volatile chemical contaminants in processed foods by purge-and-trape

capillary gas chromatography with mass selective detection. **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry International**, v. 78, n. 2, p. 391-397, 1995.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; DOS SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method, **Phytotherapy Research**, London, v. 15, n. 2, p. 127–130, 2001

MINOLTA, K. **Comunicação precisa da cor: controle de qualidade da percepção à instrumentação**. 1998. 59p.

MORETTI, C. L. – **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**, Brasília, 2007 p. 140.

NASSER, M. D. **Gesso e Composto Orgânico no Preparo de Solo, Enxofre em Cobertura, na Nutrição, Produção e Características Físico-Químicas da Couve-de-folha**. Tese de Doutorado – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas (Campus de Botucatu), Botucatu, 2018.

NASCIMENTO, H. M.; DELGADO, D. A.; BARBARIC, I. F. – Avaliação da Aplicação de Agentes Sanitizantes como Controladores do Crescimento Microbiano na Indústria Alimentícia. **Revista Ceciliana**, Universidade Santa Cecília, 2010.

NELSON, N. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. **Journal Biological Chemistry**, Baltimore, v.31, n.2, p.159-161, 1944.

NEPA. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (Unicamp). **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)**. 4. ed. São Paulo, 2011.

NOBILE, F. O.; ANUNCIAÇÃO, M. G. Folhosas: Valores e Tendências do Mercado Brasileiro. **Anuário Brasileiro de Hortaliças, 2019**. Revista Campo & Negócios, pág. 58-60, 2019.

RASH, V. A. Physical and chemical treatments for control of *Salmonella* on cantaloupe rinds. In: ANNUAL MEETING OF IAFP (International Association for Food Protection), 90th., 2003, New Orleans. **Program and Abstract Book...** New Orleans, 2003. Abstract P240, p. 142.

REYES, V.G. Improved preservation systems for minimally processed vegetables. **Food Australia**, North Sydney, v. 48, n. 2, p. 87-90, 1996.

RIGUEIRA, G. D. J.; BANDEIRA, A. V. M.; CHAGAS, C. G. O.; MILAGRES, R. C. R. M. Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*brassica oleracea* l. var. *acephala*) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 37, n. 2, p. 3-12, 2016.

RINALDI, M. M.; BENEDETTI, B. C.; SARANTÓPOULOS, C. I. G L.; MORETTI, C. L. Storage of minimally processed cabbage in different packaging systems. In: INTERNATIONAL POSTHARVEST SYMPOSIUM, 6., 2009, Antalya. **Abstracts...** Antalya: CA&MA, 2009. p. 184

ROURA, S. I.; DAVIDOVICH, L. A.; DEL VALLE, C. E. Quality loss in minimally processed swiss chard related to amount of damaged area. **Lebensm-Wiss und Technology**, v. 33, n. 1, p. 53-59, 2000.

ROLLE, R. S.; CHISM, I. I. I.; GRADY, W. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, [s.l.], v. 10, n. 3, p. 157-177, 1987.

SANTOS, M. D.; BLATT, C. T. T. Teor de flavonoides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers de mata e de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 135-140, 1998.

SANCHES, A. G.; COSTA, J. M.; SILVA, M. B.; MOREIRA, E. G. S. Utilização de radiação gama e amido de milho no armazenamento pós-colheita das folhas de couve manteiga. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 3, n. 4, p. 24-31, 2016.

SASAKI, F. F. **Processamento mínimo de abóbora (*Cucurbita moschata* Duch.): alterações fisiológicas, qualitativas e microbiológicas**. 2005. 145p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, 2006. **Censo Agropecuário. Brasil, grandes regiões e unidades da federação**. Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 777p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 100 p.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. **Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent**. *Methods of Enzymology*, 299: 152-178, 1999.

SREBERNICH, S. M. Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. **Ciência e Tecnologia Alimentos**. Campinas, v. 27, n.4, p. 744-750, 2007.

SUSLOW, T. Postharvest chlorination – Basic properties and key points for effective disinfection. In: ANNUAL WORKSHOP FRESH-CUT PRODUCTS: MAINTAINING QUALITY AND SAFETY, 5., 1999, Davis. **Proceedings...Davis**: University of California, 1997. Section 9c, 8p.

TRANI, P. E.; TIVELLI, S. W.; BLAT, S. F.; PRELA-PANTANO, A.; TEIXEIRA, E. P.; ARAÚJO, H. S.; FELTRAN, J. C.; PASSOS, F. A.; FILGUEIREDO, G. J. B.; NOVO, M. C. S. S. **Couve de folha: do plantio à pós-colheita**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2015. 36p. Online (Série Tecnologia Apta. Boletim Técnico IAC, 214).

VANETTI, M. C. D. **Aspectos microbiológicos de produtos minimamente processados. Departamento de microbiologia**. Universidade de Viçosa, 2005. Disponível

em:<https://www.researchgate.net/publication/240627080_Aspectos_microbiologicos_de_produtos_minimamente_processados>. Acesso em: 17 de janeiro de 2019.

VELÁZQUEZ, L. C.; BARBINI, N. B.; ESCUDERO, M. E.; ESTRADA, C. L.; GUZMÁN, A. M. S. **Evaluation of chlorine, benzalkonium chloride and lactic acid as sanitizers for reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Yersinia enterocolitica* on fresh vegetables.** Food Control v. 20 p.262-268, 2009.

VIEITES, R. L.; DAIUTO, E. R.; FUMES, J. G. F. Capacidade antioxidante e qualidade pós-colheita de abacate 'Fuerte' **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 2, p. 336-348, 2012.

WATCH, A.; PYRZYŃSKA, K.; BIESAGA, M. Quercetin content in some food and herbal samples. **Food Chemistry**, v.100, p.699–704, 2007.

WILEY, R. C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables.** London: Chapman & Hall, 1994. 357p.

WHITHAM, F. H.; BLAYDES, D. F.; DEVLIN, R. M. **Experiments in plant physiology.** New York: D. Van Nostrand Company, 1971, p. 55-58.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). 2005. **Drug-resistant Salmonella. Fact Sheet** N°139, Revised April 2005. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>>. Acesso em: 16 de abril de 2019.