



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



ALINE MENDES DE SOUSA GOUVEIA

**ATMOSFERAS HIPERBÁRICA E MODIFICADA NA PÓS-COLHEITA DE
BRÓCOLIS RAMOSO**

Botucatu

2019

ALINE MENDES DE SOUSA GOUVEIA

**ATMOSFERAS HIPERBÁRICA E MODIFICADA NA PÓS-COLHEITA DE
BRÓCOLIS RAMOSO**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Horticultura).

Orientadora: Profª Drª Giuseppina P. P. Lima
Coorientador: Prof. Dr. Igor Otávio Minatel

Botucatu

2019

G719a Gouveia, Aline Mendes de Sousa
Atmosferas hiperbárica e modificada na pós-colheita
de brócolis ramoso / Aline Mendes de Sousa Gouveia. --
Botucatu, 2019
96 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientadora: Giuseppina Pace Pereira Lima
Coorientador: Igor Otávio Minatel

1. Tecnologia pós-colheita. 2. Brassicaceae. 3.
Compostos bioativos. 4. Antioxidantes. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título:
"ATMOSFERAS HIPERBÁRICA E MODIFICADA NA PÓS-COLHEITA DE
BRÓCOLIS RAMOSO"

AUTORA: ALINE MENDES DE SOUSA GOUVEIA
ORIENTADORA: GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA
COORDENADOR: IGOR OTÁVIO MINATEL


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



Prof.ª Dr.ª GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA
Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP



Prof. Dr. ANGELO PEDRO JACOMINO
Produção Vegetal / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz



Prof.ª Dr.ª CAMILA RENATA CORREA CAMACHO
Unidade de Pesquisa Experimental / Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp



Prof. Dr. BEN-HUR MATTIUZ
Bioquímica e Microbiologia / Instituto de Biociências - Unesp - Rio Claro



Prof. Dr. MARLON JOCIMAR RODRIGUES DA SILVA
Pós-Doutorando - Horticultura / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu

Botucatu, 19 de novembro de 2019.

Dedico as minhas avós Divina Nogueira (in memoriam) e Eurípedes

Maria, com imenso amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado forças, por sempre ouvir minhas orações, guiar minha vida assim como minhas escolhas, no desafio de executar e escrever esta tese.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Horticultura), por ter propiciado condições para a realização deste trabalho.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Giuseppina Pace Pereira Lima e ao meu coorientador Prof. Dr. Igor Otávio Minatel pela imensa paciência nos ensinamentos e por agregar conhecimento técnico e científico a este trabalho, e pelos inúmeros “puxões de orelha” que me fizeram crescer profissionalmente.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos fornecida.

Aos professores e pesquisadores parceiros nesse trabalho: Profa. Dra. Camila Renata Corrêa da Unidade de Pesquisa experimental (UNIPLEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP/Botucatu, ao Prof. Dr. Angelo Jacomino da Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, ESALQ/USP, ao Prof. Dr. Ben-Hur Mattiuz da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, UNESP/Jaboticabal, e suas equipes, por compartilharem seus equipamentos, espaço físico cedido em seus laboratórios e pelo tempo a esse trabalho dedicado, para que fosse possível a realização desta tese.

Ao produtor e colega Luís Felipe Baldini e sua família (Sítio Janeiro) responsáveis pela produção de brócolis, por sempre me acolher bem na propriedade em todas as etapas de colheita.

Aos meus colegas de trabalho do Laboratório de Química e Bioquímica Vegetal LQBV (IBB/UNESP), muito obrigada! Todos fizeram grande diferença durante esses anos de convívio e aprendizado.

À toda minha família, principalmente a minha mãe Ivete e meu tio Ivan por sempre estarem ao meu lado partilhando de todos os momentos. Vocês me deram forças,

amor e apoio incondicional para que eu nunca parasse de lutar pelos meus sonhos. Nem sei como expressar a imensa gratidão por tanto amor que recebo de vocês!

Ao Marcelo Souza, pelas conversas, carinho, amor e apoio incondicional nas alegrias e dificuldades ao longo dessa caminhada.

Aos meus amigos de Botucatu: Família OxiéNois, Família CTAM e Igreja Presbiteriana Jardim Paraíso, imensa gratidão por me acolherem de braços abertos, por torcerem por mim e fazerem da minha estadia em Botucatu muito mais descontraída e divertida.

Às minhas amigas, irmãs de coração: Juliana Tauffer, Ana Paula Preczenhak, Natália Dalloca, Mariana Marcondes, Marielle Marcondes, Kézia Warmuth, Isabella Baldin, Cinthia Dias, Bárbara Grigoretto, Ana Gabriela Lima, Grazielle Colombo, Luciana Colombo, Marina Lopes, Paulinha Olivati, Gisela Buzollo, Raily Jamal, Karina Cabrera, Rafaela Gaspar, Raquel Gaspar, Rafaela Munhoz, Veridiana Zocoler, agradeço a Deus por ter me dado a oportunidade de conhecer e conviver com pessoas tão maravilhosas como vocês! Vocês sempre estiveram comigo, muitas vezes estando eu tão longe, ajudando, incentivando, enxugando minhas lágrimas, compartilhando das minhas tristezas e alegrias! Obrigada minhas flores!!

Aos novos colegas de trabalho e ao corpo diretor da UNIFIO (Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos/SP), por todo apoio, incentivo e compreensão. A arte de lecionar, cada dia um novo desafio, em um mundo que todos têm pressa em aprender! Encorajador, desafiador e muito gratificante... Meus primeiros passos dessa longa e prazerosa jornada de ensinar ao próximo mas, muito mais de aprender com ele!

RESUMO

O brócolis destaca-se como alimento benéfico para a saúde humana, pois é fonte de compostos bioativos que combatem os radicais livres e previnem doenças. Contudo, apresenta alta perecibilidade em condições de temperatura ambiente, induzindo-o a rápida comercialização. A utilização de métodos de conservação pós-colheita, que amenizem os danos provocados pelo processo de senescência, são essenciais e permitem manutenção da qualidade funcional e comercial. Desta forma, o objetivo desta tese foi avaliar os efeitos da aplicação das atmosferas hiperbárica e modificada passiva na qualidade, no conteúdo e estabilidade de substâncias bioativas em brócolis cv. Rannapon. Os experimentos consistiram de: 1) Aplicação da atmosfera hiperbárica nas inflorescências de brócolis ramoso cv. Rannapon, a 20 °C por 1 e 2 dias (1 HP e 2 HP) em cinco pressões: 100 (controle), 200, 400, 600 e 800 kPa. Após estes tratamentos as inflorescências foram levadas para câmara fria a 14 °C \pm 2, UR 85 \pm 2,5 % e 100 kPa e mantidas por um dia para simular as condições de comercialização (1 HP+R e 2 HP+R). Os principais resultados mostraram que as inflorescências tratadas com 1 HP em atmosfera hiperbárica acima de 600 kPa apresentaram manutenção das características pós-colheita, quanto aos teores de compostos bioativos, atributos da cor e qualidade. Os fatores e condições pós-colheita avaliados mostraram a necessidade de se desenvolver mais estudos para elucidação de pontos importantes como pressão e tempo de exposição. 2) Aplicação da atmosfera modificada passiva nas inflorescências de brócolis ramoso cv. Rannapon, foi conduzida em quatro filmes plásticos: polietileno de baixa densidade (PEBD) de 50 μ m de espessura e tamanho de (25 x 45 cm); polipropileno (PP) de 50 μ m de espessura e tamanho de (25 x 45 cm); filme policloreto de vinila (PVC) de 20 μ m colocado em bandeja de poliestireno expandido e polietileno de baixa densidade (PEBD) 25 μ m (tratamento controle). As inflorescências embaladas foram armazenadas por 7 dias a 14 °C (simulação da rede varejista) ou 22 °C (simulação em temperatura ambiente). Os resultados demonstraram que os filmes PEBD e PP retardaram o processo de senescência, por manter baixos os níveis de O₂ e induzir a síntese de metabólitos com propriedades antioxidantes, como a ativação da biossíntese fenólica, em todo o período de armazenamento e em ambas as temperaturas. A redução da senescência refletiu em menor perda de massa e degradação de clorofila e carotenoides, indicando sua

eficácia na manutenção da aparência (cor verde). Os filmes PEBD e PP destacaram-se também por manterem elevados os níveis de ácidos fenólicos, espermina, espermidina e dopamina, assim como, serotonina e os níveis de kaempferol, quercetina, O-metilquercetina e rutina em floretes de brócolis. Brócolis mantidos em embalagens seladas apresentaram diminuição nos níveis de putrescina comparado a embalagem não selada, significando aumento da vida pós-colheita. A atmosfera modificada passiva não manteve os teores de ácido ascórbico (vitamina C), comparado ao armazenado em embalagens não seladas. Contudo, houve a manutenção dos níveis de bioativos, garantindo os benefícios a saúde e de ações preventivas ao desenvolvimento de doenças.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *Italica*; qualidade; atmosfera hiperbárica; conservação; atmosfera modificada passiva; compostos bioativos; senescência.

ABSTRACT

Broccoli as a benefits food for human health because it is a source of bioactive compounds that fight free radicals and prevent disease. However, it has high perishability under ambient temperature conditions, inducing rapid commercialization. The use of postharvest conservation methods that mitigate the damage caused by the senescence process are essential and allow the maintenance of functional and commercial quality. Thus, the objective of this was to evaluate the effects of the application of conservation atmospheres (hyperbaric and passive modified) on commercial quality, content and stability of bioactive substances in broccoli cv. Rannapon. The experiments consisted of: 1) Application of the hyperbaric atmosphere in the inflorescences of cv. Rannapon at $20 \pm 1^\circ\text{C}$ (1 and 2 days) and five pressures: 100 (control), 200, 400, 600 and 800 kPa. After this treatment the inflorescences were taken to a cold chamber at $14 \pm 2^\circ\text{C}$, RH $85 \pm 2.5\%$ and 100 kPa and kept for one day to simulate the commercial conditions (1 HP +R and 2 HP +R). The main results showed that only the inflorescences treated with 1 day in a 600 kPa hyperbaric atmosphere showed relevant postharvest characteristics, regarding bioactive compound contents, color maintenance and quality. The postharvest factors and conditions evaluated resulted in unstable metabolic responses. 2) Application of the passive modified atmosphere on inflorescences of broccoli ramoso cv. Rannapon was conducted on four different plastic films: 50 μm thick and low density polyethylene (LDPE) (25 x 45 cm); polypropylene (PP) of 50 μm thickness and size (25 x 45 cm); 20 μm polyvinyl chloride (PVC) film placed in a 25 μm expanded polystyrene and LDPE (control treatment) expanded polystyrene tray. The packaged inflorescences were stored for 7 days at $14 \pm 2^\circ\text{C}$ (retail chain simulation) or $22 \pm 2^\circ\text{C}$ (room temperature simulation). The results showed that the LDPE and PP films delayed the senescence process by keeping O_2 levels low and inducing metabolite synthesis with antioxidant properties, such as the activation of phenolic biosynthesis, throughout the storage period and at both temperatures. The reduction in senescence reflected in less mass loss and degradation of chlorophyll and carotenoids, indicating its effectiveness in maintaining appearance (green color). LDPE and PP films also stood out for maintaining high levels of phenolic acids, spermine, spermidine and dopamine, as well as serotonin and kaempferol, quercetin, O-methylquercetin and rutin levels in broccoli rapiers. Broccoli kept in sealed packages showed a decrease in putrescine levels compared to unsealed packaging,

meaning increased postharvest life. The modified passive atmosphere did not maintain ascorbic acid (vitamin C) content compared to that stored in unsealed packages. However, bioactive levels were maintained, ensuring health benefits and preventive actions for the development of diseases.

Keywords: *Brassica oleracea* var. Italica; quality; hyperbaric atmosphere; conservation; passive modified atmosphere; bioactive compounds; senescence.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1. Projeto bidimensional (A) e escores (B) de atributos físico-químicos e bioquímicos nos dois principais componentes do brócolis cv. Rannapon apresentou HP e HP + R a 100, 200, 400, 600 e 800 kPa. Tratamentos 1 (100), 1 (200), 1 (400), 1 (600), 1 (800) a 1HP (agrupamento vermelho); 2 (100), 2 (200), 2 (400), 2 (600), 2 (800) a 2HP (agrupamento amarelo); 1,1 (100), 1,1 (200), 1,1 (400), 1,1 (600), 1,1 (800) a 1HP + R (agrupamento verde); 2,1 (100), 2,1 (200), 2,1 (400), 2,1 (600), 2,1 (800) a 2HP + R (agrupamento azul).29

Figura 2. Inflorescências de brócolis cv. Hannapon submetido ao tratamento hiperbárico por 1HP a 20 ° C a 100, 200, 400, 600 e 800 kPa e 90% RH \pm 2,5 (A) e por 2HP (C); seguido de armazenamento em câmara fria por 1HP + R a 14 ° C e 85% RH \pm 2,5 (B) e 2HP + R (D).....33

Capítulo II

Figura 1. Análise de componentes principais (PC1 e PC2) dos floretes de brócolis cv. Rannapon com a aplicação de atmosfera modificada passiva (PEBD, PP, PVC e Controle) a 14 \pm 2 ° C, por 7 dias. Abreviaturas das variáveis analisadas: Composição gasosa (O₂ e CO₂); atributos da cor (L*: luminosidade; C*: cromaticidade; h°: ângulo hue); Clr: clorofila total; Crt: carotenoides totais; carotenoides (Zea: zeaxantina; Lut: luteína; α Crt: α caroteno; β Crt: β caroteno); atividade antioxidante (Flv: flavonoides totais; FRAP; DPPH; Fenois: compostos fenólicos).....60

Figura 2. Análise de componentes principais (PC1 e PC2) dos floretes de brócolis cv. Rannapon com a aplicação de atmosfera modificada passiva (PEBD, PP, PVC e Controle) a 22 \pm 2 ° C, por 3 dias. Abreviaturas das variáveis analisadas: Composição gasosa (O₂ e CO₂); atributos da cor (L*: luminosidade; C*: cromaticidade; h°: ângulo hue); Clr: clorofila total; Crt: carotenoides totais; carotenoides (Zea: zeaxantina; Lut: luteína; α Crt: α caroteno; β Crt: β caroteno); atividade antioxidante (Flv: flavonoides totais; FRAP; DPPH; Fenois: compostos fenólicos).....62

Capítulo III

Figura 1. Floretes de brócolis cv. Rannapon submetidas a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias a 14 \pm 2 ° C e por 2 dias a 22 \pm 2 ° C com umidade relativa de 85 \pm 5 %.....80

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Classes de cor e valores correspondents L^* , C^* e h° em brócolis cv. Rannapon.....27

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos de brócolis cv. Rannapon submetido a diferentes pressões (100, 200, 400, 600 e 800 kPa) em sistema hiperbárico (HP) a $20 \pm 1^\circ \text{C}$, $90 \pm 2,5\%$ UR, armazenado em câmara fria a $14 \pm 2^\circ \text{C}$, $85 \pm 2,5\%$ RH (HP + R)30

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos de brócolis cv. Rannapon submetido a diferentes pressões (100, 200, 400, 600 e 800 kPa) em sistema hiperbárico (HP) a $20 \pm 1^\circ \text{C}$, $90 \pm 2,5\%$ UR, armazenado em câmara fria a $14 \pm 2^\circ \text{C}$, $85 \pm 2,5\%$ RH (HP + R)31

Tabela 4. Perda de peso (%) e ângulo de matiz (h°) em brócolis submetidos a diferentes pressões (100, 200, 400, 600 e 800 kPa) em sistema hiperbárico (HP) a $20 \pm 1^\circ \text{C}$, $90 \pm 2,5\%$ UR, armazenado em uma câmara fria a $14 \pm 2^\circ \text{C}$, $85 \pm 2,5\%$ RH (HP + R)32

Capítulo II

Tabela 1. Escala de cor com valores correspondents (L^* , C^* e h°) para determinação de viabilidade e comercialização de brócolis cv. Rannapon43

Tabela 2. Perda de peso (%), concentração O_2 (%), concentração de CO_2 (%), atributos de cor luminosidade (L^*), cromaticidade (C^*), ângulo hue (h°), clorofila e carotenoides totais ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) em floretes de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de $14 \pm 2^\circ \text{C}$ e por 3 dias a temperatura de $22 \pm 2^\circ \text{C}$ e umidade relativa de $85 \pm 5\%$ 48

Tabela 3. Floretes de brócolis cv. Rannapon submetidas a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de $14 \pm 2^\circ \text{C}$ e por 3 dias a $22 \pm 2^\circ \text{C}$ e umidade relativa de $85 \pm 5\%$ 51

Tabela 4. Luteína ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$), zeaxantina ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$), α -caroteno ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$), β -caroteno ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) em floretes de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) analisados por 0, 1, 3 e 7 dias à temperatura de $14 \pm 2^\circ \text{C}$ e 0, 1 e 2 dias a temperatura de $22 \pm 2^\circ \text{C}$ e umidade relativa de $85 \pm 5\%$ 54

Tabela 5. Atividade antioxidante: DPPH (mg quercetina 100g⁻¹), fenóis totais (mg ácido gálico 100 g⁻¹), flavonoides totais (mg 100g⁻¹), e FRAP (mol quercetina 100g⁻¹) em floretes de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 3 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5%..... 58

Capítulo III

Tabela 1. Escala de cor com valores correspondentes (L*, C* e h°) para determinação de viabilidade e comercialização de brócolis cv. Rannapon. 72

Tabela 2. Ácido gálico (mg 100g⁻¹) e ácido clorogênico (mg 100 g⁻¹) em inflorescência de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 2 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5 % 77

Tabela 3. Flavonoides em inflorescência de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 2 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5 %..... 81

Tabela 4. Poliaminas em inflorescência de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 2 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5 %..... 83

Tabela 5. Vitamina C (ácido ascórbico e dehidroascórbico em mg 100g⁻¹) em inflorescência de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 3 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5 %..... 86

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	19
CAPÍTULO I – PRESSÃO HIPERBÁRICA COMO ALTERNATIVA PÓS-COLHEITA PARA PRESERVAR A QUALIDADE DE BROCOLIS.....	23
1.1 INTRODUÇÃO	25
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	25
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
1.4 CONCLUSÃO	35
1.5 REFERÊNCIAS.....	35
CAPÍTULO II – FILMES PLÁSTICOS E TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO NA MANUTENÇÃO DOS ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS NA PÓS-COLHEITA DE BRÓCOLIS RAMOSO	38
2.1 INTRODUÇÃO	40
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	41
2.2.1 Material vegetal	41
2.2.2 Tratamentos	41
2.2.3 Delineamento experimental e condições de armazenamento	41
2.2.4 Análise das atmosferas modificadas	42
2.2.4.1 Perda de peso fresco	42
2.2.4.2 Composição gasosa	42
2.2.4.3 Parâmetros de cor	42
2.2.4.4 Determinação de viabilidade e comercialização.....	42
2.2.4.5 Preparo das amostras para as análises de compostos antioxidantes	43
2.2.4.6 Teor de clorofila e carotenoides totais.....	44
2.2.4.7 Perfil de carotenoides por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance).....	44
2.2.4.8 Preparo do extrato para determinação da capacidade antioxidante total.....	45
2.2.4.9 Capacidade antioxidante	45
2.2.4.10 Compostos fenólicos totais.....	46
2.2.4.11 Teor de flavonoides totais	46
2.2.5 Análise estatística	46
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46

2.3.1 Perda de peso	46
2.3.2 Composição gasosa	47
2.3.3 Componentes de cor e clorofila total.....	50
2.3.4 Carotenoides totais e perfil dos carotenoides por HPLC	52
2.3.5 Capacidade antioxidante	56
2.3.6. Análise de componentes principais (PCA).....	60
2.4 CONCLUSÃO.....	62
2.5 REFERÊNCIAS	63
CAPÍTULO III - ATMOSFERA MODIFICADA PASSIVA MODIFICA OS NIVEIS DE DOPAMINA E POLIFENÓIS EM BROCOLIS.....	
3.1 INTRODUÇÃO	69
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	71
3.2.1 Preparo das amostras para as análises.....	73
3.2.2 Perfil dos compostos bioativos por UPLC (Cromatografia Líquida de Ultra Performance).....	73
3.2.3 Perfil de Polifenóis	73
3.2.4 Perfil das Poliaminas	74
3.2.5 Perfil da Vitamina C (Ácidos ascórbico e dehidroascórbico).....	75
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.3.1 Conteúdo de polifenóis	75
3.3.2 Conteúdo das poliaminas	82
3.3.3 Vitamina C (Ácido ascórbico e Dehidroascórbico).....	84
3.4 CONCLUSÃO.....	87
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94

INTRODUÇÃO GERAL

O brócolis (*Brassica oleracea* var. *Italica*) é uma hortaliça pertencente à família Brassicaceae, originada a partir da seleção e mutação da espécie *B. sylvestris*, com centro de origem na região do Mediterrâneo (DIXON; DICKSON, 2006). É uma planta cultivada em diversas partes do mundo, com área estimada em um milhão de hectares e produção anual em torno de 19 milhões de toneladas (FAO, 2019). No Brasil, o cultivo abrange todo o país em uma área de 4.534 mil hectares, concentrada principalmente nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste, totalizando uma produção anual de 64,6 mil toneladas, tendo o Estado de São Paulo como o principal produtor desta hortaliça (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI, 2019).

Hortaliças como o brócolis são formadas por inflorescências compostas de tecido vegetativo e botões florais. Por serem colhidas imaturas, deterioram-se rapidamente, uma vez que apresentam alta atividade metabólica, com durabilidade de dois a três dias em condições de armazenamento a temperatura ambiente (JIA et al., 2009). A deterioração pós-colheita é decorrente de mudanças nos processos bioquímicos e elevada taxa respiratória. Estas mudanças promovem alterações visíveis em sua estrutura e composição, como a abertura dos botões florais, perda de turgescência, desenvolvimento de odores, perda da coloração verde e, conseqüentemente, degradação da clorofila, com perda do seu valor nutricional e comercial (KADER, 2002).

Nestas condições, estudos e métodos de conservação pós-colheita são essenciais para a manutenção das características organolépticas e funcionais em brócolis, proporcionando maior tempo de comercialização. Sabe-se que o uso da refrigeração (VALLEJO et al., 2003; NATH et al., 2011) e de tecnologias aliadas a ela, como atmosfera modificada (VICENTE et al., 2003), choque térmico (TOSUN; YÜCECAN, 2008; VINA; CHAVES, 2008), radiação UV-C (LEMOINE et al., 2007) e aplicação de 1- Metilciclopropeno (1-MCP) (MA et al., 2009) contribuem para conservação das inflorescências de brócolis. Entretanto, estas metodologias para a conservação pós-colheita não estão completamente elucidadas, principalmente com relação aos aspectos fisiológicos, manutenção da qualidade e dos compostos bioativos. Além disso, métodos como a aplicação de atmosfera hiperbárica, ainda não foram testadas na conservação de brássicas.

A atmosfera hiperbárica é uma alternativa na conservação de frutas e hortaliças, por reduzir a carga de microorganismos e retardar mecanismos fisiológicos de amadurecimento e de senescência. Esta técnica é baseada em um aumento artificial da pressão parcial de oxigênio, que expõe por curto prazo, frutos e hortaliças a ambientes com pressões entre 100 a 1000 kPa (GOYETTE et al., 2011). Dessa maneira, assegura-se a homogeneidade e a segurança microbiológica por agir independentemente do tamanho, forma ou composição do produto, sob condições de temperatura ambiente, estendendo sua vida útil (VIGNEAULT et al., 2012).

O uso de altas pressões de oxigênio pode provocar um estresse específico no produto hortícola e promover alterações na atividade metabólica, ocasionando danos aos tecidos e induzindo à formação de radicais livres (GONZALEZ-AGUILAR et al., 2010). Em resposta, as células vegetais induzem ou ativam o sistema oxidante, desencadeando à síntese de moléculas bioativas (THOMPSON, 2016).

Embora não existem estudos que mostrem a ação da atmosfera hiperbárica na conservação pós-colheita de brócolis, assim como, sua viabilidade econômica, alguns trabalhos mostram resultados interessantes no que diz respeito à manutenção da qualidade pós-colheita e no prolongamento da vida útil de alguns vegetais como o tomate, o milho doce, a alface e o avocado 'Hass' (BABA; IKEDA, 2003; LIPLAP et al., 2011; GOYETTE et al., 2012a,b; VIGNEAULT et al., 2012; LIPLAP et al., 2013a,b,c; INESTROZA-LIZARDO et al., 2018). Sendo assim, a atmosfera hiperbárica pode ser uma alternativa viável para estender a vida útil, manter a qualidade e as características organolépticas e funcionais de brócolis.

A aplicação da atmosfera modificada passiva, aliada a refrigeração, é outra tecnologia, não completamente elucidada, utilizada na conservação de brócolis. O objetivo principal da atmosfera modificada passiva é reduzir a concentração de O₂ e elevar CO₂, diminuir a atividade respiratória e retardar a senescência, conseqüentemente, aumentando a vida útil do produto armazenado (SANDHYA, 2010).

Por meio do uso de filmes plásticos esta tecnologia permite reduzir o manuseio excessivo dos produtos. Quando aplicados logo após a colheita minimizam a perda de água, suprimem o desenvolvimento de patógenos e aumentam o período de conservação. Este sistema é composto por modificações na atmosfera interna dos filmes, interação entre a respiração do produto e a

transferência dos gases entre a atmosfera externa e interna. A permeabilidade do filme permite que os gases entrem em equilíbrio até atingir uma taxa de transferência de massa similar à taxa de respiração (CASTELLANOS; CERISUELO, et al., 2016).

Dessa forma, é importante a escolha e aplicação de um filme plástico adequado para brócolis, o qual permita a manutenção da qualidade por meio de concentrações de gases favoráveis. Uma vez que os níveis de O₂ e CO₂ não são adequados, pode ocorrer maturação irregular, aparecimento de sabores e odores indesejáveis, distúrbios fisiológicos (mudanças cromáticas, de textura e degradação de compostos bioativos), levando à perda de seu valor de mercado (DOMINGUEZ et al., 2016).

Dentre as hortaliças, o brócolis é considerado alimento funcional por conter compostos fitoquímicos como ácidos fenólicos, polifenóis, carotenoides, aminas bioativas, vitaminas (A e C) e minerais como cálcio, potássio, ferro e zinco (PODSEDEK, 2007). Fornecido diariamente ao organismo humano, os antioxidantes naturais presentes nas inflorescências são responsáveis por proteger o corpo do estresse oxidativo, pelo potencial de induzir e/ou promover o aumento da atividade de enzimas envolvidas na desintoxicação de compostos carcinogêneos, reduzindo as condições e os riscos de desenvolvimento de doenças, como o câncer, doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e a depressão (DOMINGUEZ-PERLES et al., 2011; KHADJAL et al., 2013; PASCOAL et al., 2014). Além disso, esses compostos fitoquímicos apresentam alto potencial antioxidante para auxiliar na minimização dos efeitos nocivos das espécies reativas de oxigênio (EROS), protegendo as plantas contra fatores ambientais desfavoráveis e aumentando sua capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais por meio de alterações nos compostos do metabolismo secundário, por exemplo (KAPUSTA-DUCH et al., 2019).

Os polifenóis são antioxidantes naturais produzidos pelas plantas a partir do metabolismo secundário em resposta à influência de fatores abióticos e bióticos (Thomaz et al., 2018) com capacidade de neutralizar reações oxidativas que acontecem em resposta às EROS (CARTEA, et al., 2011). No brócolis, têm-se como exemplos dessa classe de polifenóis, os flavonoides quercetina e o kaempferol (VALLEJO et al., 2002). Estudos mostraram uma associação de benefícios à saúde com o consumo de alimentos que os contêm, pela ampla gama de atividades

farmacológicas, incluindo antioxidantes, anti-inflamatórios, anti-microbianos, anti-câncer, entre outros (KRUMBEIN et al., 2007).

Outro importante composto com alto poder antioxidante encontrado em brócolis é a vitamina C, representadas pelo ácido ascórbico e dehidroascórbico. Têm como função a capacidade de interromper a reação em cadeia dos radicais livres (MAZUREK; JAMROZ, 2015). Como o corpo humano não é capaz de sintetizar vitamina C, a única fonte é uma dieta rica em produtos vegetais, e o brócolis é uma hortaliça que apresenta $34,3 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de vitamina C em sua composição (TACO, 2011). Apresenta papel importante na síntese de colágeno, absorção gastrointestinal de ferro, redução dos níveis de colesterol no sangue, melhora o sistema imunológico e um poderoso antioxidante (MAZUREK; JAMROZ, 2015). Em plantas, Mazza et al. (2000) relatam que a presença do ácido ascórbico pode inibir a degradação oxidativa do flavonoide quercetina, atuando sinergicamente, como protetor. Esse efeito protetivo também foi relatado por Anzorena et al. (2009) sob a retenção da cor verde intenso nas inflorescências de brócolis.

Consideradas moléculas antioxidantes, as aminas biogênicas são encontradas nos vegetais e estão envolvidas em processos como divisão e diferenciação celular, síntese de ácidos nucléicos e proteínas, resposta ao estresse e atraso na senescência (MORET et al., 2005). São exemplos a putrescina, espermina e espermidina, encontradas em grandes concentrações em brócolis, que dependendo dos níveis podem ser relevantes não apenas para o estender a vida útil do vegetal mas também, potencializar a qualidade organoléptica e funcional, contribuindo em benefício a saúde humana (BREGOLI et al., 2005).

Contudo, brócolis por serem sensível ao armazenamento em condições de temperatura ambiente, tecnologias pós-colheita são primordiais para a manutenção da qualidade e dos compostos bioativos, pois o conteúdo e/ou perdas consideráveis podem ocorrer nesta etapa. Diante da sua importância alimentar, objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da atmosfera hiperbárica e atmosfera modificada passiva nas características organolépticas, funcionais e na extensão da vida útil pós-colheita do brócolis cv. Rannapon submetidos ao armazenamento refrigerado, para simulação de comercialização à 14°C e armazenamento em temperatura ambiente.

CAPÍTULO I – PRESSÃO HIPERBÁRICA COMO ALTERNATIVA PÓS-COLHEITA PARA PRESERVAR A QUALIDADE DE BRÓCOLIS

RESUMO

O brócolis é uma hortaliça rica em bioativos, apresenta rápida perecibilidade e prolongar a vida pós-colheita é de suma importância. Várias tecnologias podem ser empregadas, porém, ainda não há relatos do uso da atmosfera hiperbárica na pós-colheita de brócolis cv. Rannapon. O tratamento hiperbárico em diferentes níveis de pressão (100, 200, 400, 600 e 800 kPa) e posterior armazenamento em ambiente refrigerado foi testado como alternativa na conservação da qualidade e dos níveis de antioxidantes, além do aumento da vida útil em curto prazo. Neste estudo, as inflorescências de brócolis cv. Rannapon foram submetidas por um e dois dias em atmosfera hiperbárica (20 °C e 90 ± 2,5 % UR) com cinco pressões, i.e. 100 (controle), 200, 400, 600 e 800 kPa e após este período, foram armazenadas em câmara fria (14 °C, 85 ± 2,5 % UR) por um dia para simular condições de comercialização. O tratamento hiperbárico induziu perceptíveis mudanças na qualidade das inflorescências e nos teores de compostos bioativos. As inflorescências tratadas sob 800 kPa apresentaram maiores valores de ângulo hue, clorofila, flavonoides, carotenoides e fenóis totais, e menor atividade da peroxidase. Dessa forma, altas pressões hiperbáricas pode ser uma alternativa viável para manter a qualidade de brócolis, assim como, dos níveis de antioxidantes, associado ao baixo percentual de perda de peso. Entretanto, comparado a outros métodos de conservação pós-colheita, o tempo de permanência em atmosfera hiperbárica pode reduzir a vida útil (menor que dois dias) e a qualidade (perda de cor, crocância e textura), mesmo induzindo a maiores teores de compostos bioativos. Devido à baixa vida útil (amarelecimento antecipado), houve produção de resíduos. Esse material, devido à sua composição fitoquímica, pode ser utilizado e/ou reaproveitado por indústria usando o subproduto.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *Italica*; altas concentrações de oxigênio; armazenamento; antioxidantes; senescência

ABSTRACT

Broccoli is an excellent source of bioactive compounds, but also a highly perishable commodity and therefore increasing the costs in warehouse management systems. Although some technologies have been employed, there is a paucity of researches on the effects of hyperbaric pressure on postharvest treatment of broccoli cv. Rannapon. Antioxidants play a vital role in extending the shelf life of broccoli; therefore, we propose hyperbaric pressure ($20 \pm 1^\circ\text{C}$ and $90 \pm 2.5\%$ UR) in broccoli inflorescences at 100 (control), 200, 400, 600 and 800 kPa and subsequent refrigerated storage ($14 \pm 2^\circ\text{C}$, $85 \pm 2.5\%$ RH) for one day to simulate commercialization environment. Results showed noticeable changes, such as inflorescence quality and bioactive-compounds content. The current results demonstrated that application of hyperbaric pressure up to 600 kPa for one day, provided higher values of hue angle, chlorophyll, flavonoids, carotenoids and total phenols, but lower peroxidase activity. Thus, broccoli cv. Rannapon subjected to higher pressures is a viable alternative to maintain its antioxidant levels, as well as reducing the percentage of weight loss. By comparing to other postharvest storage methods, hyperbaric atmosphere reduces shelf-life time (less than two days) and quality (loss of colour and texture), even inducing higher levels of bioactive compounds. Moreover, there is a concern in waste production when broccoli has a low shelf life, since its by-products could be reused by food industry due its phytochemical traits.

Keywords: *Brassica oleracea var. Italica*; High concentrations of oxygen; Storage; Antioxidants; Senescence.

1.1 INTRODUÇÃO

O brócolis (*Brassica oleracea* var. *Italica*), considerado alimento funcional, apresenta alta capacidade antioxidante devido a presença de compostos fenólicos (quercetina e kaempferol), carotenoides (luteína e β -caroteno), vitaminas A e C e minerais (cálcio, magnésio, potássio e ferro) (PODSEDEK, 2007). O consumo de alimentos contendo estes compostos é importante para a promoção da saúde e do bem-estar, pois podem inibir e/ou interromper a cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais livres, auxiliando na prevenção de doenças como câncer, depressão, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (KHALAJ et al., 2013).

Além do valor nutracêutico, o brócolis é uma hortaliça que apresenta rápida senescência após colhido, com durabilidade de 2 a 3 dias se exposto em condições de armazenamento a 20°C (JIA et al., 2009). Dessa forma, torna-se necessário a aplicação de tecnologias de conservação pós-colheita que prolongue a vida útil, retarde este processo de senescência e conseqüentemente, preserve a qualidade e a manutenção dos compostos bioativos. Tecnologias tem sido utilizada para manter a qualidade pós-colheita em plantas hortícolas, como o uso de refrigeração (NATH et al., 2011), atmosfera modificada (VICENTE et al., 2003), tratamento térmico (TOSUN; YÜCECAN, 2008), UV-C (LEMOINE et al., 2007), aplicação de 1-Metilciclopropeno (MA et al., 2009).

Pesquisas recentes demonstram que o uso de atmosfera hiperbárica pode ser uma alternativa às tecnologias tradicionais de conservação pós-colheita, por consistir-se de tratamento físico de conservação de frutos e hortaliças, baseada na exposição por curto prazo à ambientes com altas pressões de oxigênio (100 a 1000 kPa) (GOYETTE et al., 2011; INESTROZA-LIZARDO et al., 2018). Resultados promissores foram obtidos no prolongamento da vida de pós-colheita de mume fruit (*Prunus mume* L.) (BABA; IKEDA, 2003), milho doce (LIPLAP et al., 2013c), alface (LIPLAP et al., 2014a), tomate (INESTROZA-LIZARDO et al., 2019), abacate 'Hass' (LIPLAP et al., 2011). Em tomates submetidos a diferentes níveis de pressão hiperbárica houve aumento dos teores de licopeno (GOYETTE et al., 2012a; LIPLAP et al., 2013a, b; INESTROZA-LIZARDO et al., 2018).

O uso atmosfera hiperbárica garante a homogeneidade e a segurança microbiológica por agir independentemente do tamanho, forma ou composição do

produto, sob condições de temperatura ambiente, estendendo sua vida útil (VIGNEAULT et al., 2012). Por outro lado, esta tecnologia pode provocar um estresse específico nas células e promover alterações na atividade metabólica, pois os altos níveis de oxigênio do sistema hiperbárico podem induzir danos aos tecidos e formação de radicais livres (GONZALEZ-AGUILAR et al., 2010). Em resposta, as células induzem ou ativam o sistema oxidante, desencadeando a síntese de moléculas bioativas (THOMPSON, 2016). Nesse sentido, nosso objetivo foi verificar se a aplicação da atmosfera hiperbárica pode ser uma alternativa aos métodos tradicionais de armazenamento pós-colheita em brócolis cv. Rannapon, visando a manutenção da qualidade e dos níveis compostos bioativos e aumento da vida útil das inflorescências brócolis.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

Brócolis cv. Rannapon cultivados em Jaboticabal, São Paulo, Brasil (latitude 21° 15' 17" S e longitude 48° 19' 20" O, 605 m de altitude), foram colhidas de acordo com a classificação comercial (cor da inflorescência em tom verde intenso, flores fechadas) e padronizadas quanto à ausência de danos mecânicos e infecções.

Os experimentos foram conduzidos em sistema hiperbárico conforme o descrito em Inestroza-Lizardo et al. (2019). Brevemente, o sistema consistiu de 5 câmaras de aço com volume de 10,75 L, interligadas a um circuito fechado pelo qual circulava um fluxo constante de ar comprimido, mantendo constante as pressões parciais de oxigênio (21 kPa) e de nitrogênio (78 kPa). O CO₂ foi adsorvido pela passagem prévia do ar em uma câmara contendo óxido de cálcio. A entrada do sistema foi conectada a um compressor para fornecimento de ar.

Quinze quilos de inflorescências foram divididos em cinco grupos (1 kg), com três repetições. Cada repetição foi colocada nas câmaras e submetida à 100 (controle), 200, 400, 600 e 800 kPa de pressão. A umidade relativa no interior das câmaras foi mantida a $90 \pm 2,5$ % UR (monitorada a cada 30 minutos, com registrador de dados HOBO Prov2 U-23-001). Os brócolis permaneceram nas pressões pelo tempo de 1 e 2 dias (1HP e 2HP) à 20 ± 1 °C. No final de cada período as câmaras foram automaticamente despressurizadas por 2 horas. Cerca de 500 gramas de inflorescências (unidade experimental) foram avaliadas






imediatamente e o restante foi armazenado por 1 dia sob refrigeração à 14 ± 2 °C e $85 \pm 2,5$ % UR, para simular a comercialização (1HP+R e 2HP+R).

A perda de massa (PM) foi determinada pela diferença entre o peso inicial (antes da aplicação dos tratamentos) e peso final (após os tratamentos hiperbáricos e após a refrigeração), expresso em porcentagem.

A cor das inflorescências foi determinada usando chromameter modelo CR 400 com iluminante D65 (Minolta, Japan). Os valores das cores foram expressos no sistema de cores CIELAB * (preto-branco), a* (vermelho-verde), b* (azul-amarelo). Os componentes utilizados foram luminosidade (L*), cromaticidade (C*) e ângulo Hue (h°).

A escala de classificação de cor de brócolis cv. Rannapon (Tabela 1) foi elaborada como uma ferramenta para avaliar a qualidade e a viabilidade comercial do produto, após adaptação de Kader & Cantwell (2004). Inflorescências de brócolis são consideradas viáveis para comercialização e consumo até 40 % de amarelecimento e acima deste valor são consideradas impróprias.

Tabela 1. Classes de cor e valores correspondents L*, C* e h° em brócolis cv. Rannapon

Escala de cor	L*	C*	h°	Descrição
	38,92	11,37	130,00	Verde escuro (100 % verde)
	40,95	18,97	125,16	Verde claro (20 % amarelado)
	47,32	24,68	114,24	Verde amarelado (40 % amarelado)
	53,69	18,95	100,49	Amarelo esverdeado (60 % amarelado)
	57,07	26,59	90,21	Amarelo (100 % amarelo)

*Média de 10 pontos em cada amostra analisada

Para determinação das análises físico-química (pH, acidez titulável e sólidos solúveis), as amostras foram maceradas em processador de alimentos doméstico (Super Centrifuga Turbo Juicer CF-06, Mondial), formando um extrato homogêneo. O pH foi determinado por leitura direta em potenciômetro (Digital DMPH-2). A acidez titulável (AT) mensurada pela titulação de NaOH 0,1 N, em uma solução contendo 5

mL do extrato homogêneo, 50 mL de água destilada e 0,3 mL de fenolftaleína como indicador, com resultados expressos em porcentagem de ácido málico. Os teores de sólidos solúveis (SS) foram determinados por refratômetro (Atago Palette, PR101) e expressos em °Brix.

As análises bioquímicas de clorofila total (CLO), carotenoides totais (CAR), fenóis totais (PT), flavonoides totais (FLA) e atividade da peroxidase (POD) foram realizadas a partir da pulverização das inflorescências em nitrogênio líquido, com auxílio do moinho criogênico (IKA® do Brasil, Ika Mills A11) e armazenadas em freezer - 80 °C.

Os pigmentos CLO e CAR foram analisados segundo o método proposto por Lichtenthaler (1987), extraídos em acetona 80 % (v/v). Clorofila foi medida em 663 e 646 nm e à 450 nm para carotenoides totais. Os resultados expressos em mg 100 g⁻¹ FM (massa fresca).

O teor de fenóis totais (PT) foi obtido de acordo com Singleton & Rossi (1965), com adaptações. As amostras foram homogeneizadas em metanol 80 % (v/v) e 0,5 mL do extrato foi adicionada ao reagente de Folin–Ciocalteu (1:4 v/v) e ao carbonato de sódio 4 % (v/v). Após repouso a 20 °C por 30 min, a leitura foi realizada em 760 nm e o resultado expresso em mg de ácido gálico equivalente por 100 g FM (mg EAG 100 g⁻¹ FM).

Os flavonoides totais (FLA) foram analisados em amostras homogeneizadas em metanol acidificado (70:10 v/v) e solução de cloreto de alumínio a 5 % (v/v) (POPOVA et al., 2004). Após incubação por 45 min à temperatura ambiente, deu-se leitura em 425 nm em espectrofotômetro (Bel Engineering®, V-M5), o resultado expresso em mg equivalente de quercetina 100 g⁻¹ FM.

A atividade da peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7) foi determinada em 505 nm (Lima et al., 1999) e os resultados expressos em µmol H₂O₂ decomposto min⁻¹ g⁻¹ FM.

A taxa respiratória (RR) foi determinada nas inflorescências tanto após a despressurização da câmara hiperbárica a 20 °C (HP) e após o armazenamento à 14 °C. As amostras foram acondicionadas em frascos herméticos por 60 minutos. Uma alíquota do gás do head space (0,2 mL) foi coletado e injetado em cromatógrafo gasoso (Trace GCUltra, Thermo Finnigan), equipado com detectores de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar Porapak N de 2 m de comprimento. A temperatura da coluna foi ajustada para 80 °C e o hidrogênio foi

usado como gás de arraste (35 mL min^{-1}). As temperaturas de trabalho foram $110 \text{ }^\circ\text{C}$, $250 \text{ }^\circ\text{C}$ e $200 \text{ }^\circ\text{C}$ para a coluna, detector e injetor, respectivamente. Os resultados foram expressos em $\text{mL de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$) (software SISVAR – versão 5.3, Viçosa, Brazil). A análise de componentes principais (PCA, software XLSTAT - versão 2017, Addinsoft, USA) foi realizada para identificar similaridades entre os tratamentos e os efeitos na qualidade de brócolis cv. Rannapon.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de componentes principais (PCA) foram desenvolvidas com resultados de todas as análises físico-químicas e bioquímicas, identificando dois componentes principais (PC1 e PC2), que explicam 66,79 % da variabilidade total. O gráfico Biplot (PC1xPC2) obtido a partir de dados quantitativos apresentou o agrupamento dos tempos de tratamentos hiperbáricos (1HP e 2HP) e após o armazenamento refrigerado (1HP+R e 2HP+R) (Figura 1).

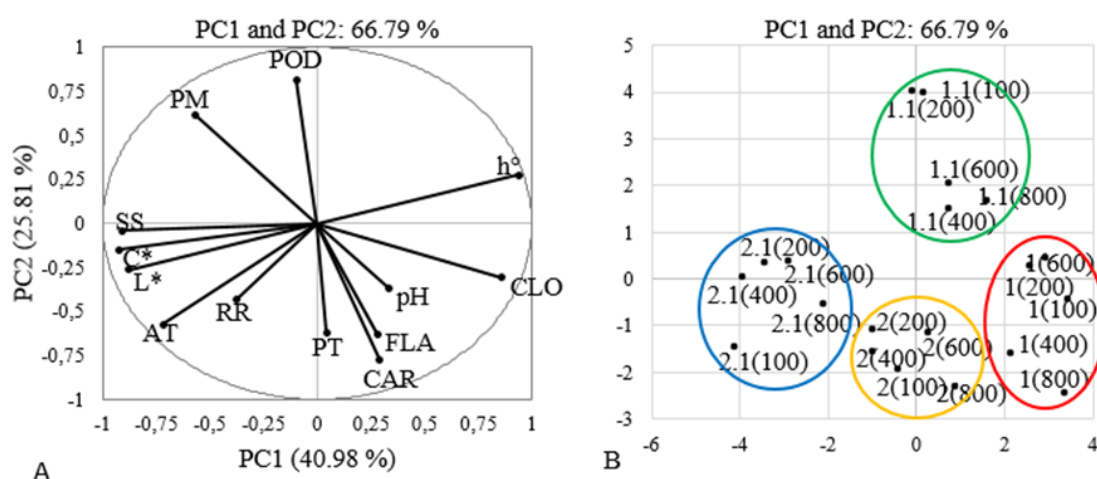


Figura 1. Projeto bidimensional (A) e escores (B) de atributos físico-químicos e bioquímicos nos dois principais componentes do brócolis cv. Rannapon apresentou HP e HP + R a 100, 200, 400, 600 e 800 kPa. Tratamentos 1 (100), 1 (200), 1 (400), 1 (600), 1 (800) a 1HP (agrupamento vermelho); 2 (100), 2 (200), 2 (400), 2 (600), 2 (800) a 2HP (agrupamento amarelo); 1,1 (100), 1,1 (200), 1,1 (400), 1,1 (600), 1,1 (800) a 1HP + R (agrupamento verde); 2,1 (100), 2,1 (200), 2,1 (400), 2,1 (600), 2,1 (800) a 2HP + R (agrupamento azul).

Clorofila total (CLO) e ângulo hue (h°) (PC1+), acidez titulável (AT), luminosidade (L^*), cromaticidade (C^*), sólidos solúveis (SS) e perda de massa (PM) (PC1-) foram as características que mais contribuíram na separação dos tratamentos pela PC1, que explicou 40,98 % da variância (Figura 1). PC1 demonstram que as inflorescências tratadas por 1HP mantiveram valores mais elevados de ângulo hue e clorofila total (Figura 1, Tabelas 2 e 3), enquanto que, as inflorescências submetidas por 2HP +R mantiveram valores elevados de AT, SS, L^* e C^* (Figura 1, Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos de brócolis cv. Rannapon submetido a diferentes pressões (100, 200, 400, 600 e 800 kPa) em sistema hiperbárico (HP) a $20 \pm 1^\circ \text{C}$, $90 \pm 2,5\%$ UR, armazenado em câmara fria a $14 \pm 2^\circ \text{C}$, $85 \pm 2,5\%$ RH (HP + R)

Parâmetros	1HP	2HP	1HP+R	2HP+R
Acidez Titulável (% ácido málico)	0,44 b	0,59 a	0,34 b	0,66 a
DP	0,02		0,03	
Sólidos solúveis ($^\circ\text{Brix}$)	6,86 b	7,45 a	7,25 b	7,86 a
DP	0,15		0,10	
Luminosidade (L^*)	40,21 b	47,75 a	41,27 b	51,99 a
DP	0,44		0,40	
Chromaticidade (C^*)	14,07 b	25,77 a	17,65 b	31,18 a
DP	0,76		0,55	
Angle hue (h°)	130,89 a	115,64 b	-	-
DP	0,89			

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey's ($p < 0.05$); DP: desvio padrão

O segundo componente principal (PC2) explicou 25,81 % da variância total e foi efetiva em separar os brócolis mantidos por 2HP daqueles tratados por 1 HP+R. A análise de PC2 permite sugerir uma forte contribuição dos fenóis, carotenoides e flavonoides totais (PC2-) na separação dos tratamentos nessa componente, que neste caso, indicam que essas variáveis foram mais relacionadas às inflorescências submetidas por 2 HP, valores médios mais elevados (Figura 1, Tabela 3).

Brócolis tratados por 1HP preservaram 100 % da cor verde (Figura 2 A), i.e. classe 1, pela escala de classificação (Tabela 1). Analisando o efeito das pressões aplicadas neste período, as inflorescências submetidas a 100 (controle), 400 e 800 kPa mantiveram os maiores teores de clorofila totais (Tabela 3), conseqüentemente melhor qualidade visual dos brócolis.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos de brócolis cv. Rannapon submetido a diferentes pressões (100, 200, 400, 600 e 800 kPa) em sistema hiperbárico (HP) a 20 ± 1 ° C, $90 \pm 2,5\%$ UR, armazenado em câmara fria a 14 ± 2 ° C, $85 \pm 2,5\%$ RH (HP + R)

Parâmetros	Pressão	1HP	2HP	1HP+R	2HP+R
Clorofila total (mg 100 g ⁻¹)	100 kPa	298.44 Aa	187.56 Ba	129.3 Ab	121.61 Aab
	200 kPa	217.05 Ab	170.24 Bab	146.26 Ab	107.51 Bab
	400 kPa	328.06 Aa	137.55 Bb	199.38 Aa	97.13 Bb
	600 kPa	233.33 Ab	165.3 Bab	181.4 Aa	128.58 Ba
	800 kPa	323.57 Aa	194.44 Ba	204.26 Aa	115.77 Bab
	DP		8.88		6.40
Carotenoides totais (mg 100 g ⁻¹)	100 kPa	57.24 Aab	54.37 Aa	28.30 Bc	45.37 Aab
	200 kPa	38.09 Bc	48.92 Aa	30.19 Bc	42.38 Ab
	400 kPa	63.32 Aa	48.53 Ba	52.56 Aa	45.12 Aab
	600 kPa	48.71 Abc	48.13 Aa	36.54 Bbc	53.7 Aa
	800 kPa	68.32 Aa	54.85 Ba	41.35 Ab	47.88 Aab
	DP		2.76		2.63
Fenóis totais (mg 100 g ⁻¹)	100 kPa	654.42 BCb	823.65 Aa	522.35 Bb	691.0 Aa
	200 kPa	612.29 Ac	613.16 Abc	550.27 Bb	696.8 Aa
	400 kPa	775.89 Aab	725.52 Aab	813.59 Aa	678.31 Ba
	600 kPa	658.36 Abc	552.85 Ac	549.9 Bb	644.67 Aa
	800 kPa	818.04 Aa	689.2 Babc	557.48 Bb	635.17 Aa
	DP		36.45		18.20
Flavonoides totais (mg 100 g ⁻¹)	100 kPa	125.30 Bb	156.68 Aab	79.03 Bc	157.12 Aa
	200 kPa	128.54 Ab	136.92 Ac	81.27 Abc	84.92 Ab
	400 kPa	98.76 Bc	137.49 Ac	103.16 Abc	79.31 Bb
	600 kPa	110.29 Bbc	160.83 Aa	105.77 Ab	83.55 Bb
	800 kPa	150.57 Aa	156.59 Aab	152.67 Aa	92.38 Bb
	DP		4.84		6.02
Atividade da peroxidase (µmol min ⁻¹ g ⁻¹)	100 kPa	74.77 Aab	57.24 Ba	126.7 Ab	47.63 Bc
	200 kPa	66.77 Aabc	62.25 Aa	155.9 Aa	105.05 Ba
	400 kPa	76.66 Aa	63.41 Aa	153.46 Aa	100.18 Ba
	600 kPa	56.09 Abc	62.53 Aa	88.28 Ac	62.91 Bb
	800 kPa	53.96 Ac	64.94 Aa	122.72 Ab	61.94 Bb
	DP		4.72		3.04

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0.05$); DP: desvio padrão

Observou-se que as inflorescências tratadas em 400 kPa apresentaram o maior percentual de PM (3,72 %) (Tabela 4) e em 800 kPa, os maiores teores de

carotenoides, fenóis e flavonoides totais e a menor atividade da peroxidase (Tabela 3). O uso desta tecnologia não comprometeu a qualidade comercial, visto que as maiores pressões aplicadas induziram os menores percentuais de PM, evidenciadas também por Liplap et al. (2014a) em alface. Nas hortaliças, a perda de água é a causa principal de deterioração não só porque resulta em perdas quantitativas diretas, mas também por ter impacto negativo na qualidade do produto, influenciando a aparência e textura (KADER, 2002). De acordo com Finger & França (2011), o brócolis é uma hortaliça sensível a desidratação e perdas de peso maiores que 4 %, compromete a qualidade comercial. Assim, brócolis tratados com 1HP mantiveram as melhores características de qualidade, visto que, houve a manutenção dos compostos bioativos. Os elevados níveis desses compostos bioativos, manutenção da intensidade da cor verde (maior valor de ângulo hue) e a baixa atividade da peroxidase, sugerem maior shelf life e manutenção das características pós-colheita. Portanto submeter brócolis às altas pressões por 1HP pode ser uma alternativa para manter a qualidade, associado ao baixo percentual de perda de massa.

Tabela 4. Perda de peso (%) e ângulo de matiz (h °) em brócolis submetidos a diferentes pressões (100, 200, 400, 600 e 800 kPa) em sistema hiperbárico (HP) a 20 ± 1 ° C, $90 \pm 2,5\%$ UR, armazenado em uma câmara fria a 14 ± 2 ° C, $85 \pm 2,5\%$ RH (HP + R)

Pressão	Perda de peso (%)		Ângulo hue (h°)	
	1HP	2HP	1HP+R	2HP+R
100 kPa	2.79 Aab	2.98 Aa	128.77 Aa	99.63 Bc
200 kPa	1.11 Bb	2.97 Aa	127.56 Aa	100.49 Bc
400 kPa	3.72 Aa	1.09 Bb	125.16 Aa	102.83 Bbc
600 kPa	2.19 Aab	1.58 Aab	124.77 Aa	109.49 Bab
800 kPa	1.79 Ab	1.24 Aab	126.83 Aa	112.39 Ba
DP	0.42		1.61	

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0.05$); DP: desvio padrão.

Nas inflorescências tratadas por 2HP, houve maior variação na intensidade da cor (aumento do C^* e L^* , diminuição do h°) (Tabela 2) e menores teores de clorofila

total (Tabela 3), indicando um leve amarelecimento (Figura 2 C). Esse efeito pode ser atribuído à exposição por maior tempo em atmosfera hiperbárica, induzindo alterações em níveis celulares, acelerando a perda da cor verde e perda da longevidade pós-colheita. Com isso, apresentaram prejuízo à aparência, desclassificando-as para o consumo e comercialização na forma de produto fresco, mesmo estando abaixo do percentual de PM encontrado na literatura (4 %) (Tabela 4). Entretanto, por não serem viáveis para consumo in natura, as inflorescências podem ser processadas gerando subprodutos ricos em compostos bioativos a serem utilizados em processos industriais, como o farmacêutico. É provável que as altas pressões parciais de oxigênio dentro e ao redor do vegetal, tenham promovido a formação de radicais livres, que induziram os mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo, desencadeando a síntese de moléculas bioativas (GONZALEZ-AGUILAR et al., 2010; THOMPSON, 2016).

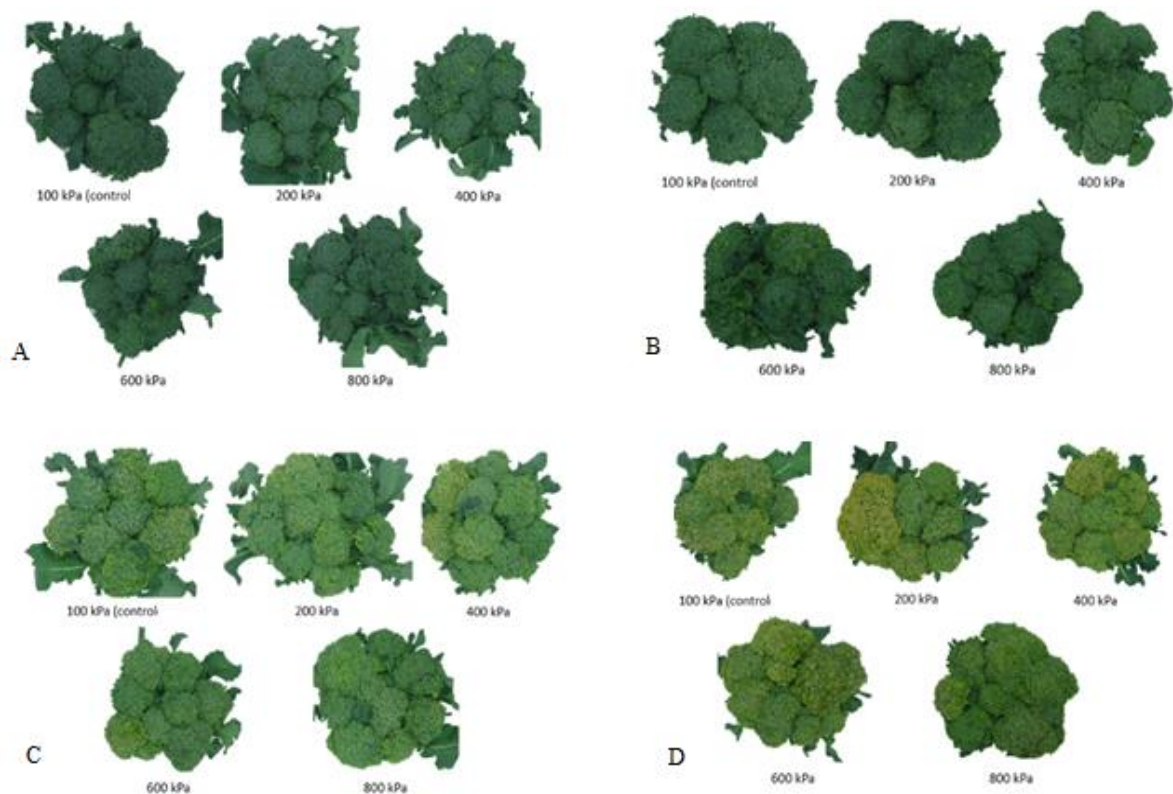


Figura 2. Inflorescências de brócolis cv. Hannapon submetido ao tratamento hiperbárico por 1HP a 20 ° C a 100, 200, 400, 600 e 800 kPa e 90% RH \pm 2,5 (A) e por 2HP (C); seguido de armazenamento em câmara fria por 1HP + R a 14 ° C e 85% RH \pm 2,5 (B) e 2HP + R (D)

Após a despressurização do sistema hiperbárico (HP), as inflorescências foram armazenadas sob refrigeração por um dia à $20 \pm 1^\circ\text{C}$, $90 \pm 2,5\%$ RH (1HP+R e 2HP+R) para simular condições de comercialização. Sob as condições 1HP+R, as inflorescências mantiveram elevados os níveis de clorofilas e flavonoides totais, entretanto, foi observado maior atividade da POD (Tabela 3) e PM superior a 4 % (7,61 %) em relação à 2HP+R. Brócolis tratados por 1HP+R em 600 kPa apresentaram menor atividade da POD, comparado com os demais tratamentos, semelhante ao descrito por Inestroza-Lizardo et al., 2019. A atividade da POD é um indicativo de estresse oxidativo, pois catalisa a reação de degradação de peróxido (substrato da enzima), scavenging the H_2O_2 , um radical livre, que dependendo dos níveis celulares em que se encontram, pode promover danos e acelerar processos de senescência em vegetais (MILTTER, 2002). Esse efeito pode indicar um estresse fisiológico, refletido na aparência e textura indesejáveis (perda de crocância e suculência). Contudo, estas inflorescências apresentaram maiores valores para o h° , o que significa a manutenção da cor verde (classe 2) (Tabela 1), em comparação ao período de maior permanência sob pressão (2 HP+R) (Figura 1, Tabela 4), fato positivo na manutenção da qualidade (Figura 2 B). Dessa forma, maior atividade da peroxidase pode indicar uma forma de proteção contra o estresse oxidativo.

As inflorescências tratadas por 2HP+R apresentaram sinais claros de deterioração e amarelecimento. Os altos valores de C^* , L^* , AT, SS, baixos teores de CLO, FLA e de h° (Tabela 2, Tabela 4) e a baixa atividade da POD (Tabela 3), insere estes brócolis nas classes 4 e 5 (Tabela 1), ou seja, inviáveis para comercialização e consumo (Figura 2 D). Valores elevados de L^* podem estar associados a degradação da clorofila e ao aparecimento de pigmentos amarelados, associando-se também à maior cromaticidade (C^*). Para o ângulo Hue, a relação é oposta, isto é, quanto menor o valor, mais rápida é a mudança da cor verde para a amarela, indicativo da aceleração do processo de senescência (PATHARE et al., 2013). Dessa forma, o efeito produzido pela atmosfera hiperbárica por 2HP pode não ser interessante para a manutenção da qualidade física dos brócolis, pois o amarelecimento é um sinal claro de deterioração do produto.

Neste estudo, a taxa respiratória e o pH não apresentaram respostas significativas sob influência dos tratamentos em HP e/ou HP+R. De acordo com Kader & Ben-Yehoshua (2000), a exposição de produtos hortícolas à alta concentração de oxigênio pode não apresentar efeito nas taxas de respiração,

dependendo da matéria-prima, da maturidade, do estágio de desenvolvimento, da concentração de O₂, do tempo de exposição, da temperatura de armazenamento e das concentrações de CO₂ e C₂H₄.

1.4 CONCLUSÃO

O tratamento hiperbárico foi proposto como uma alternativa de tratamento físico na conservação das inflorescências de brócolis cv. Rannapon em curto prazo, aliado a refrigeração. Os resultados mostraram que as inflorescências apresentaram respostas metabólicas questionáveis em relação ao tempo de exposição ao sistema, às pressões aplicadas (níveis de oxigênio) e temperatura de armazenamento, necessitando de mais investigação. Apenas as inflorescências tratadas por 1HP e sob pressões acima de 600 kPa apresentaram características pós-colheita relevantes em relação aos teores de compostos bioativos, manutenção da cor e qualidade. Entretanto, quando expostas por maior tempo em HP apresentaram curto prazo de vida de prateleira em comparação a outros métodos de conservação pós-colheita, como a refrigeração, atmosfera modificada, tratamento térmico e aplicação de 1-Metilciclopropeno.

1.5 REFERÊNCIAS

ANSORENA, M. R. et al. Impact of edible coatings and mild heat shocks on quality of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L.) during refrigerated storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.59, p.53–63, 2011.

BABA, T.; IKEDA, F. Use of high-pressure treatment to prolong the postharvest life of mume fruit (*Prunus mume*). **Acta Horticulturae**, v.628, p. 373-377, 2003.

FINGER, F.L.; FRANÇA, C.F.M. Pre-cooling and conservation of green leafy vegetables. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 51. **Horticultura Brasileira**, v. 29. Viçosa: ABH.S5793-S5812, 2011.

GONZALEZ-AGUILAR, G.A. et al. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. **Trends Food Science and Technology**, v. 21, p.475-482, 2010.

GOYETTE, B. et al. Effect of hyperbaric treatments on the quality attributes of tomato. **Canadian Journal Plant Science**, v. 92, p. 541-551, 2012.

- GOYETTE, B. et al. Conceptualization, design and evaluation of a hyperbaric respirometer. **Journal Food Engineering**, v.105, p.283-288, 2011.
- INESTROZA-LIZARDO, C. et al. Effect of hyperbaric pressure on the activity of antioxidant enzymes and bioactive compounds of cv. 'Debora' tomatoes. **Scientia Horticultural** v.249, p. 340-436, 2019.
- INESTROZA-LIZARDO, C. et al. Hyperbaric pressure at room temperature increases post-harvest preservation of the tomato 'Debora'. **Scientia Horticultural**, v. 228, p.103-112, 2018.
- JIA, C-G. et al. Effect of modified atmosphere packaging on visual quality and glucosinolates of broccoli florets. **Food Chemistry** v.114, p. 28–37, 2009.
- KADER, A. A. **Postharvest biology and technology: an Overview**. In: Kader AA (ed) Postharvest technology of horticultural crops, 3 rd edn. Davis, California, pp 43-54, 2002.
- KADER, A. A.; BEN-YEHOSHUA, S. Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology Tecnology** v. 20, p.1-13, 2000.
- KADER, A.A.; CANTWELL, M. **Produce Quality Rating Scales and Color Charts**. Davis, California, 2004.
- KHALAJ, L, et al. Assessing competence of broccoli consumption on inflammatory and antioxidant pathways in restraint-induced models: Estimation in rat hippocampus and prefrontal cortex. **Biomed Research International**, v.1, p.1–13, 2013.
- LEMOINE, M. L. et al. Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). **Journal Science Food Agriculture**, v.87, p.1132-1139, 2007.
- LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymol**, v.148, p.350-382, 1987.
- LIMA, G.P.P.; BRASIL, O.G.; OLIVEIRA, A. M. Polyamines and peroxidase activity in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under saline stress. **Scientia Agricola**, v. 56, p. 21-26, 1999.
- LIPLAP, P. et al. Effect of hyperbaric pressure and temperature on respiration rates and quality attributes of Boston lettuce. **International Journal Food Science Technology**, v. 49, p.137–145, 2014.
- LIPLAP, P. et al. Effect of hyperbaric pressure and temperature on respiration rates and quality attributes of tomato. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p.240-248, 2013a.
- LIPLAP, P. et al. Tomato shelf-life extension at room temperature by hyperbaric pressure treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v.86, p.45-52, 2013b.

- LIPLAP, P. et al. Effect of hyperbaric treatment on respiration rates and quality attributes of sweet corn. **Internatinal Journal Postharvest Techonoly Innovation**, v. 3, p. 257-271, 2013c.
- LIPLAP, P. et al. Hyperbaric treatment vs respiration rates and quality attributes of avocado. **American Society Agricultural Biological Engineers**, v2, p.11-274, 2011.
- MA, G. et al. Effect of 1-methylcyclopropene on expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors in post-harvest broccoli. **Journal Plant Growth Regulation**, v. 57, p. 223–232, 2014.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance: Review. **Trends Plant Science**, v.7, p. 405-410, 2002.
- NATH, A. et al. Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. **Food Chemistry**, v.127, p.1510–1514, 2011.
- PATHARE, P.B. et al. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v.6, p.36-60, 2013.
- PODSEDEK, A. Natural antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. **J Food Science and Technology**, v. 40, p.1–11, 2007.
- POPOVA, M. et al. Validated methods for the quantifi cation of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochem Analysis**, v.15, p.235-240, 2004.
- SINGLETON, V.L; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Journal Enology and Viticulture** v.16, p. 144-158, 1965.
- THOMPSON, A.K. **Hyperbaric Storage**. In: *Fruit and Vegetables Storage – Hypobaric, Hyperbaric and Controlled Atmosphere – Springer Briefs in Food, Public Health Nutr* 1:93-109, 2016.
- TOSUN, B. N.; YÜCECAN, S. Influence of commercial freezing and storage on vitamin C content of some vegetables. **Internatinal Journal Food Science and Technology**, v. 43, p. 316–321, 2008.
- VICENTE, A.R. et al. Influence of selfproduced CO₂ on postharvest life of heat treated strawberries. **Postharvest Biology Technology**, v. 27, p. 265–275, 2003.
- VIGNEAULT, C. et al. Engineering aspects of physical treatments to increase fruit and vegetable phytochemical content. **Canadian Journal Plant Science** v. 22, p.1-25, 2012.

CAPÍTULO II – FILMES PLÁSTICOS E TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO NA MANUTENÇÃO DOS ATRIBUTOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS NA PÓS-COLHEITA DE BRÓCOLIS RAMOSO

RESUMO

O brócolis, apesar de ser rico em compostos fitoquímicos apresenta limitado tempo de armazenamento após colhido, devido ao metabolismo e a sensibilidade ao etileno. Como consequência, há degradação das clorofilas, perda de peso, amolecimento e surgimento de aromas desagradáveis nos floretes que estão associados à sua senescência, interferindo na qualidade comercial. Tratamentos pós-colheita como a aplicação de filmes plástico e controle de temperatura podem ser uma tecnologia útil para retardar a senescência de hortaliças. Este estudo investigou os efeitos dos filmes plásticos na conservação dos principais atributos físico-químicos e bioquímicos em floretes de brócolis cv. Rannapon sob duas temperaturas de armazenamento. Floretes foram embalados em filmes plásticos (polietileno de baixa densidade (PEBD) de 50 µm, polipropileno (PP) de 50 µm, policloreto de vinila (PVC) de 20 µm e polietileno de baixa densidade 25 µm de espessura (embalagem não selada)) e armazenados a 14 ± 2 °C por 7 dias para simulação de comercialização nas gondolas refrigeradas dos supermercados e a 22 ± 2 °C por 3 dias para simulação em condições ambiente. Floretes embalados em filmes PEBD e PP apresentam concentração menores de O₂ e maiores de CO₂, menor perda de peso, coloração (verde intenso). Estes filmes plásticos também reduziram a degradação de clorofila e carotenoides totais, sendo mais eficientes para a conservação em função da qualidade visual e propriedades funcionais dos floretes armazenados a 14 ± 2 °C. Entretanto, a 22 ± 2 °C os florestes embalados com PEBD e PP apresentaram odores desagradáveis, acúmulo de água no interior das embalagens e redução da vida útil, inviabilizando-os para comercialização e consumo, apesar de manterem a coloração verde intensa dos floretes. O uso da atmosfera modificada passiva em ambas temperaturas de armazenamento podem induzir a síntese de metabólitos com propriedades antioxidantes, como a ativação da biossíntese fenólica, visto de forma mais efetiva nos brócolis embalados com filme PP e PEBD.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *Italica*; qualidade; antioxidantes; pigmentos.

ABSTRACT

Broccoli is rich in phytochemical compounds, but also highly perishable with a storage life limited by means of their own metabolic process and ethylene exposure. Consequently, chlorophyll degradation, weight loss, softening and unpleasant aromas in broccoli florets are associated with their senescence, interfering with commercial quality. Postharvest technologies of temperature control and cling film application can delay vegetables senescence. This study assessed the effects of several cling films to conserve the main physicochemical and biochemical attributes in broccoli florets from cultivar Rannapon under two storage temperatures. Therefore, broccoli florets were packaged in cling films: 50 μm low density polyethylene (LDPE), 50 μm polypropylene (PP), 20 μm polyvinyl chloride (PVC), 25 μm low density polyethylene (unsealed packaging) and stored at 14 ± 2 °C for 7 days to simulate vegetable and fruits display in supermarket; and at 22 ± 2 °C for 3 days to simulate room conditions. Results showed that broccoli florets packaged in LDPE and PP films have lower O₂ and higher CO₂ concentrations, lower weight loss, high humidity levels and intense green colour. Moreover, these cling films also reduced chlorophyll and total carotenoids degradation, being more efficient due to the floret's visual attributes and functional properties at 14 ± 2 °C; however, florets packaged with LDPE and PP at 22 ± 2 °C presented unpleasant odours, water accumulation inside the packages and reduced life; consequently, making them unfeasible to commercialize and consume, despite maintaining its intense green colour. Overall, the use of passive modified atmosphere packaging and storage temperature variations may induce metabolites synthesis with antioxidant properties, such as the activation of phenolic biosynthesis, seen more effectively in broccoli florets packaged with PP and LDPE.

Keywords: *Brassica oleracea* var. *Italica*; storage quality; antioxidants; polymeric films; pigments.

2.1 INTRODUÇÃO

O brócolis é considerado um alimento de alto valor nutricional e com propriedades antioxidantes. Apesar da sua rica composição nutricional, as inflorescências apresentam vida útil de dois a três dias quando armazenadas a 20 °C, resultante da alta taxa respiratória e da produção de etileno (JIA et al., 2009). Durante o período pós-colheita, é possível observar mudanças ocorridas na estrutura e composição, como a abertura dos botões florais, perda da coloração verde e da turgescência, desenvolvimento de odores desagradáveis, degradação dos pigmentos clorofilados e compostos fitoquímicos (PHOUNG et al., 2018). Esses sinais têm sido utilizados como indicadores de senescência, além de ser uma boa ferramenta para avaliar a qualidade e prever a vida de prateleira dessa hortaliça.

Para prolongar a vida pós-colheita dos brócolis e manter a qualidade fitoquímica, novas tecnologias têm sido propostas, incluindo o uso de atmosfera modificada passiva (Nath et al., 2011; Fernandez León et al., 2013; He; Xiao, 2018; Sing et al., 2018), representando uma alternativa interessante para reduzir as perdas e manter a qualidade durante a cadeia de distribuição e comercialização das inflorescências.

A aplicação da atmosfera modificada passiva, por meio da utilização de embalagens plásticas, reduz a concentração de O₂ e aumenta a de CO₂ ao redor do produto armazenado. Essa atmosfera criada no interior da embalagem, por sua vez, está associada à diminuição das taxas de respiração, retardo da senescência e conseqüentemente, manutenção da qualidade e aumento da vida útil (SANDHYA, 2010). No entanto, é de fundamental importância a escolha do filme plástico ideal para obter modificações da atmosfera e evitar níveis baixos de O₂ e altos de CO₂, condições em que ocorre a indução de anaerobiose (LUCERA et al., 2011). Em condições de anaerobiose há geração de sabor e odores desagradáveis, além de distúrbios fisiológicos, bem como aumento na incidência de fungos patogênicos deteriorantes (CASTELLANOS et al., 2016).

Dentre os materiais plásticos disponíveis, os filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP) e filme cloreto de polivinila (PVC) apresentam permeabilidade a trocas gasosas e vapor de água distintos, assim como características diferenciáveis ao consumidor (transparência, brilho e rigidez) (MANGARAJ; GOSWAMI; MAHAJAN, 2009). Sabe-se que o brócolis possui limite de

tolerância aos gases (O_2 e CO_2), com taxa variável de acordo com a variedade, integridade e temperatura de armazenamento (SANDHYA, 2010). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi determinar a eficiência da atmosfera modificada pelo uso de filmes plásticos na manutenção da qualidade e dos compostos físico-químicos e bioquímicos na extensão da vida útil de brócolis cv. Rannapon (*Brassica oleracea* var. *Italica*).

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Material vegetal

Inflorescências de brócolis (*Brassica oleraceae* L. var. *Itálica* cv. Rannapon) cultivadas convencionalmente, foram adquiridas de produção comercial na região de Botucatu/SP, Brasil (latitude de 23° 5' 3" Sul, longitude de 48° 22' 38" Oeste e altitude de 895 m). As inflorescências recém colhidas, em fase de maturidade comercial, sem danos, foram selecionadas, higienizadas por imersão por 10 minutos em solução de hipoclorito de sódio (StartClor® 0,5 %) e o excesso de água das inflorescências foi retirado.

2.2.2 Tratamentos

As amostras foram separadas em dois grupos e 300 gramas de inflorescência foram embaladas em diferentes filmes plásticos (em triplicata): polietileno de baixa densidade (PEBD - 50 μ m de espessura, 25 x 45 cm – Olimplastic®); polipropileno (PP - 50 μ m de espessura e 25 x 45 cm - Olimplastic®); policloreto de vinila (PVC - 20 μ m - AlpFilms®) e fechados em seladora pedal (Everest, modelo XIII). No tratamento controle, as inflorescências foram acondicionadas em polietileno de baixa densidade (PEBD - 25 μ m) (embalagem não selada).

2.2.3 Delineamento experimental e condições de armazenamento

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 4 (embalagens x dias de armazenamento), em triplicata. As amostras foram distribuídas em duas condições de temperaturas, i.e., 1) 14 ± 2 °C para simulação

das condições de comercialização refrigerada e 2) 22 ± 2 °C para simulação das condições de temperatura ambiente. Ambas condições apresentaram umidade relativa do ar de 85 ± 5 %. As avaliações iniciaram-se após três horas das inflorescências estarem embaladas (dia 0) e no 1°, 3° e 7° dia armazenados à 14 ± 2 °C, assim como no 1°, 2° e 3° dia armazenado à 22 ± 2 °C.

2.2.4 Análise das atmosferas modificadas

2.2.4.1 Perda de peso fresco

A perda de peso foi determinada pela diferença entre o peso inicial (0 dia) e o peso nas datas de amostragem, expressa em porcentagem.

2.2.4.2 Composição gasosa

A composição gasosa (CO₂ e O₂) foi determinada por meio do analisador de gases Witt, Mapy 4.0, com leituras no interior das embalagens em cada data de amostragem. A primeira de leitura foi realizada após 3 horas da selagem dos materiais nas condições de armazenamento (14 °C e 22 °C ± 2 °C). Como o controle apresentava-se em embalagem aberta (não selada), a medida dos gases foi realizada no interior da câmara refrigerada. Os resultados foram expressos em porcentagem de O₂ e de CO₂.






2.2.4.3 Parâmetros de cor

Os parâmetros de cor, medidos no sistema de cores CIELab, foram determinados usando o chromameter (CR 400, com iluminante D65, Minolta, Japan) em dez pontos das inflorescências, com valores expressos em L* (preto-branco), a* (vermelho-verde) e b* (azul-amarelo). Os componentes utilizados foram luminosidade (L*), cromaticidade (C*) e ângulo Hue (h°).

2.2.4.4 Determinação de viabilidade e comercialização

A determinação da viabilidade e comercialização dos floretes foi realizada com base nos parâmetros de cor para brócolis de cabeça única propostos por Kader & Cantwell (2004), seguindo-se a escala de classificação de cor de brócolis (*Brassica oleraceae* L. var. *Itálica* cv. Rannapon). Esta escala de classificação considera floretes com até 40 % de amarelecimento viáveis para comercialização e consumo (classe 3) e acima deste percentual são considerados impróprios (classe 4 e 5) (Tabela 1).

Tabela 1. Escala de cor com valores correspondentes (L^* , C^* e h°) para determinação de viabilidade e comercialização de brócolis cv. Rannapon

Classes			L^*	C^*	h°
1	Verde escuro (100 % verde)		49,82	20,85	113,18
2	Verde claro (20 % amarelado)		51,55	21,78	105,03
3	Verde amarelado (40 % amarelado)		55,55	24,60	99,12
4	Amarelo esverdeado (60 % amarelado)		56,58	25,39	91,08
5	Amarelo (100 % amarelado)		57,07	26,59	90,21

Média de 10 repetições em cada estágio de cor. Fonte: Gouveia, 2019.

2.2.4.5 Preparo das amostras para as análises de compostos antioxidantes

Após as análises das características físicas, os floretes foram congelados em nitrogênio líquido, liofilizados (liofilizador de bancada (LD 1500, Terroni®), pulverizados com auxílio do moinho criogênico (IKA® do Brasil, Ika Mills A11) e armazenados em freezer - 80 °C. As amostras foram utilizadas nas análises de

teores de clorofila e carotenoides totais, perfil dos carotenoides via HPLC, atividade antioxidante e (poli)fenóis totais.

2.2.4.6 Teor de clorofila e carotenoides totais

Aproximadamente 0,02 g de amostra foi homogeneizada em 5 mL de acetona 80 % (v/v), centrifugada a 6000 g, 4°C, por 15 min (Hettich Zenatrifugen, Mikro 220R), para extração das clorofilas e dos carotenoides totais. As leituras, em espectrofotômetro UV/VIS (Amersham-Pharmacia-Biotech), foram realizadas em 663, 646 e 450 nm e os resultados expressos em mg 100g⁻¹ peso seco (LICHTENTHALER,1987).

2.2.4.7 Perfil de carotenoides por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance)

A análise cromatográfica foi realizada para identificação e quantificação dos carotenoides predominantes em floretes de brócolis e seu comportamento em relação à aplicação da atmosfera modificada passiva, nas diferentes temperaturas (14 e 22 ± 2 °C) e períodos de armazenamento. De acordo com a escala de determinação da viabilidade e comercialização dos floretes (Tabela 1) e com base nos parâmetros de cor, floretes com percentual acima de 40 % de amarelecimento foram excluídos da análise de perfil de carotenoides por serem considerados inviáveis para comercialização e consumo. Portanto, foram excluídos os floretes embalados em PVC e controle (não embalados) ao 7º dia de armazenamento à 14 ± 2 °C, assim como também os embalados em PEBD, PP, PVC e controle ao 3º dia de armazenamento à 22 °C ± 2 °C.

Para a análise do perfil dos carotenoides, usou-se 0,1 g da amostra homogeneizada em 100 µL de pyrogallol 12 %, 200 µL de hidróxido de potássio 30 % e 1 mL de etanol grau HPLC. Após 2 horas em banho-maria a 37 °C, foram adicionados 1 mL de água ultrapura e 3 mL de éter/hexano (2:1), homogeneizados e após centrifugação (3000 g, 5 min, 4 °C; Hettich Zenatrifugen, Mikro 220R) o sobrenadante foi misturado com 2 mL de água ultra pura/etanol grau HPLC (1:1). A solução foi seca em linha de nitrogênio gasoso, ressuspendido em 150 µL de etanol grau HPLC e 20 µl foi injetado no sistema HPLC. As fases móveis foram: 60 % A

(acetato de amônio:metanol; MTBE (Methyl tert-butyl ether): água ultra pura) e 40 % B (acetato de amônio: metanol; MTBE:água ultra pura) com fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e o comprimento de onda para detecção foi de 455 nm. Os resultados foram comparados com curvas padrões elaboradas com luteína, zeaxantina, α -caroteno e β -caroteno (Sigma Aldrich®, Brasil) e os resultados expressos em mg 100g⁻¹ de peso seco.

2.2.4.8 Preparo do extrato para determinação da capacidade antioxidante total

Aproximadamente, 0,3 g da amostra foi homogeneizado em 10 mL de metanol 80 % (v/v), mantido em banho ultrassônico (Eco-sonics, Ultronique) por 20 min e centrifugado a 6000 g, 4°C por 10 min (Hettich Zenatrifugen, Mikro 220R), formando o extrato para determinação da capacidade antioxidante total e dos compostos fenólicos.

2.2.4.9 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada através dos métodos de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (Brand-Williams et al., 1995) e FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential; Benzie e Strain, 1996), com pequenas modificações.

Na determinação de DPPH, alíquotas do extrato, juntamente com 3000 μ L de metanol 80 % e 300 μ L do reagente DPPH, foram homogeneizados e mantidos por 30 minutos em ausência de luz. Para o branco, utilizou-se 3500 μ L de metanol 80 % e 300 μ L do reagente DPPH. As leituras de absorbância foram efetuadas a 517 nm e os resultados calculados por curva padrão com quercetina e expressos em mg de equivalentes de quercetina g⁻¹ peso seco.

Na determinação do FRAP, uma alíquota de 30 μ L do extrato e 900 μ L do reagente FRAP, com leitura de absorbância em 595 nm, após 60 min em repouso no escuro. O resultado calculado por curva padrão com quercetina e expresso em mol equivalente quercetina 100g⁻¹ peso seco.

2.2.4.10 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi analisado pela adição de 500 µL reagente Folin-Ciocalteu (1:4 v/v) em 500 µL do extrato bruto e carbonato de sódio 4 %. Após 30 min, a leitura (Amersham-Pharmacia-Biotech) em 760 nm foi realizada e os resultados expressos em mg de ácido gálico 100g⁻¹ peso seco (SINGLETON; ROSSI, 1965).

2.2.4.11 Teor de flavonoides totais

Os flavonoides totais foram extraídos a partir de 0,2 g da amostra em metanol acidificado (70:10 v/v). A análise foi conduzida de acordo com Popova et al. (2004), com modificações. Brevemente, foi adicionado ao sobrenadante uma solução de cloreto de alumínio a 5 % (v/v) e após 60 min em temperatura ambiente e na ausência de luz, foi realizada a leitura em 425 nm. Os resultados foram expressos em mg equivalente de quercetina 100g⁻¹ peso seco.

2.2.5 Análise estatística

Os resultados significativos apresentados pela análise de variância (ANOVA) foram submetidos ao teste Tukey para comparação das médias ($p \leq 0,05$) por meio do programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2015). A análise de componentes principais (PCA, software XLSTAT - versão 2017, Addinsoft, USA) foi realizada para identificar similaridades entre os tratamentos e os efeitos na qualidade de brócolis cv. Rannapon.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Perda de peso

Brócolis embalados com filme PEBD e PP, armazenados a 14 e 22 ± 2 °C apresentaram os menores percentuais (0,00 e 0,15 %, respectivamente) em perda peso durante o armazenamento por 7 e 3 dias. Floretes embalados com filme PVC apresentaram percentuais intermediários, i.e., 0,88 % no 7º dia à 14 ± 2°C e 1,48 %

no 3º dia à 22 ± 2 °C, comparados aos demais tratamentos (Tabela 2). As perdas de peso nestes tratamentos não foram suficientes para causar diminuição da qualidade comercial do produto ao longo do armazenamento em ambas as temperaturas estudadas. Em vegetais sensíveis a desidratação como o brócolis, perdas quantitativas diretas superiores a 4 % do seu peso inicial, comprometem a aparência, textura (Kader, 2002) e a qualidade comercial (FINGER; FRANÇA, 2011).

A maior perda peso foi detectada no tratamento controle (embalagem não selada) em ambas as temperaturas de armazenamento (Tabela 2). Perdas de peso superiores a 4 % (Kader, 2002) foram encontradas em brócolis a partir do 3º dia de armazenamento à 14 ± 2 °C (5,19 %) e ao 2º dia à 22 ± 2 °C (9,63 %) (Tabela 2). Estes floretes apresentaram baixa turgescência, com murchamento em consequência da alta atividade transpiratória e respiratória, que refletem diretamente na perda de firmeza e na desidratação, diminuindo a qualidade do produto para comercialização.

Assim, os filmes plásticos PEBD, PP e PVC mostraram-se eficientes em relação à perda de peso, inferior a 1,5 % do seu peso inicial, ao longo do período e em ambas as temperaturas de armazenamento (Tabela 2). A atmosfera modificada reduz a perda de peso, por ser limitante na difusão do vapor de água pelos filmes plásticos, garantindo a manutenção da umidade relativa no interior das embalagens (SERRANO et al., 2006).

2.3.2 Composição gasosa

Variações nas concentrações de O₂ e CO₂ são coerentes com o fato de que a escolha do filme plástico deve ser um fator chave para melhor conservação pós-colheita. Neste estudo, o perfil da composição de gases em termos de concentração de O₂ e CO₂ no interior das embalagens estudadas apresentam menores concentrações de O₂ no interior das embalagens PEBD (0,78 % no 7º dia à 14 ± 2 °C e 0,23 % no 3º dia à 22 ± 2 °C) e PP (1,54 % no 7º dia à 14 ± 2 °C e 0,32 % no 3º dia à 22 ± 2 °C), seguido do filme PVC com concentrações intermediárias (3,79 % no 7º dia à 14 ± 2 °C e 1,99 % no 3º dia à 22 ± 2 °C). As maiores concentrações de CO₂ foram detectadas no interior da embalagem PP (3,27 % à 14 ± 2 °C e 4,31 % à 22 ± 2 °C), observados ao longo do período de armazenamento (Tabela 2). Para brócolis,

a atmosfera modificada passiva para a manutenção da qualidade é de 1 a 2 % de O₂ e de 5 a 10 % de CO₂ em armazenamento à baixas temperaturas entre 5 a 7,5 °C (LUCERA et al., 2011). Dessa forma, há redução da respiração e síntese de etileno, degradação da clorofila e parede celular e redução da oxidação de compostos fenólicos (SERRANO et al., 2006).

De acordo com Ares et al. (2006), a embalagem ideal é aquela que possibilita a manutenção da qualidade do produto por meio da redução da respiração. Neste estudo, com o uso dos filmes PEBD e PP os floretes apresentaram atraso no processo de senescência, conseqüentemente pela redução da taxa respiratória observada através da diminuição nos níveis de O₂ e elevação nos níveis de CO₂ no interior das embalagens, mantendo a qualidade do produto para comercialização no armazenamento a 14 ± 2°C (Tabela 2).

Entretanto, floretes armazenados a 22 ± 2°C e embalados com filme PEBD ou PP, apresentaram acúmulo de vapor de água no interior das embalagens sobretudo no 2º dia de armazenamento, que resultaram no apodrecimento do talo e das inflorescências. Nesta temperatura, a qualidade visual foi significativamente menor pela saturação de vapor de água presente no interior da embalagem, juntamente com o odor indesejável mais intenso, condições que favoreceram a redução da vida pós-colheita dessa hortícola, inviabilizando a comercialização. Este fato, pode ter sido induzido pelo processo fermentativo, acúmulo de acetaldeído, etanol e lactato, e reduzida biossíntese de compostos aromáticos (Kader; Saltveit, 2003) que podem ocorrer também quando o interior da embalagem encontra-se nessas concentrações (1 a 2 % O₂ e 5 a 10 % CO₂) (LUCERA et al., 2011).

Tabela 2. Perda de peso (%), concentração O₂ (%), concentração de CO₂ (%), atributos de cor luminosidade (L*), cromaticidade (C*), ângulo hue (h°), clorofila e carotenoides totais (mg 100g⁻¹) em floretes de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 3 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5 %

		14 °C				22 °C			
		0	1	3	7	0	1	2	3
Perda de massa	PEBD	0,00 aA	0,00 bA	0,00 bA	0,00 cA	0,00 aA	0,00 aA	0,16 bA	0,31 bA
	PP	0,00 aA	0,00 bA	0,15 bA	0,15 cA	0,00 aA	0,00 aA	0,16 bA	0,16 bA
	PVC	0,00 aB	0,00 bB	0,44 bAB	0,88 bA	0,00 aA	0,00 aA	0,60 bA	1,48 bA
	CONTROLE	0,00 aD	1,68 aC	5,19 aB	9,90 aA	0,00 aC	1,19 aC	9,63 aB	19,38 aA
O ₂	PEBD	12,90 cA	2,50 cB	0,44 cB	0,78 cB	10,44 cA	0,25 cB	0,38 cB	0,23 cB
	PP	16,80 bA	1,91 cB	1,17 cB	1,54 cB	14,61 bA	0,08 cB	0,06 cB	0,32 cB
	PVC	19,77 aA	6,91 bB	4,69 bBC	3,79 bC	13,22 bA	2,14 bB	2,33 bB	1,99 bB
	CONTROLE	20,90 aA	20,90 aA	20,90 aA	20,90 aA	20,90 aA	20,90 aA	20,90 aA	20,90 aA
CO ₂	PEBD	0,67 aB	1,62 bA	0,70 bB	0,69 bB	1,12 aAB	1,33 bA	0,96 bB	1,28 bA
	PP	0,42 aC	3,04 aAB	3,32 aA	2,81 aB	0,57 bC	3,96 aB	4,17 aA	4,31 aA
	PVC	0,40 aB	0,90 cA	0,76 bA	0,72 bA	0,57 bB	0,96 cA	0,85 bA	0,97 cA
	CONTROLE	0,04 bA	0,04 dA	0,04 cA	0,04 cA	0,04 cA	0,04 dA	0,04 cA	0,04 dA
L*	PEBD	43,22 aB	45,35 aA	42,61 bB	43,05 cB	43,22 aAB	44,69 bA	44,73 bA	41,96 cB
	PP	43,22 aAB	44,90 aA	42,99 bAB	42,58 cB	43,22 aBC	46,41 bA	45,24 bAB	41,97 cC
	PVC	43,22 aC	45,43 aB	44,36 bBC	49,98 bA	43,22 aB	44,97 bAB	46,59 bA	46,07 bA
	CONTROLE	43,22 aC	46,06 aB	47,93 aB	54,80 aA	43,22 aB	51,60 aA	52,67 aA	51,27 aA
C*	PEBD	11,37 aA	12,86 aA	10,65 bA	13,02 cA	11,37 aAB	12,72 cA	11,16 cAB	10,00 cB
	PP	11,37 aA	12,68 aA	10,61 bA	13,85 cA	11,37 aB	16,63 bA	12,44 bcB	11,82 bcB
	PVC	11,37 aB	11,87 aB	13,28 bB	20,65 bA	11,37 aB	13,15 cAB	15,05 bA	13,86 bAB
	CONTROLE	11,37 aC	12,18 aC	17,40 aB	25,90 aA	11,37 aB	24,00 aA	21,68 aA	22,45 aA
h°	PEBD	112,35 aA	107,87 aB	112,81 abA	107,36 bB	112,35 aA	109,47 bAB	108,62 aB	110,96 aAB
	PP	112,35 aA	108,48 aB	114,52 aA	111,89 aA	112,35 aA	113,17 aA	110,42 aA	111,25 aA
	PVC	112,35 aA	106,72 aB	109,92 bAB	94,81 cC	112,35 aA	108,98 bBC	109,70 aAB	105,98 bC
	CONTROLE	112,35 aA	107,92 aB	106,01 cB	84,44 dC	112,35 aA	105,69 cB	99,65 bC	84,02 cD
Clorofila total	PEBD	332,60 aA	333,52 aA	258,9 aB	270,74 aB	332,60 aA	248,00 aB	266,90 aB	266,18 aB
	PP	332,60 aA	263,70 cB	272,41 aB	267,01 aB	332,60 aA	251,35 aB	256,41 aB	255,26 aB
	PVC	332,60 aA	296,01 bB	218,24 bC	139,15 bD	332,60 aA	212,88 bB	209,77 bB	195,81 bB
	CONTROLE	332,60 aA	254,71 cB	178,21 cC	87,95 cD	332,60 aA	147,97 cB	136,88 cB	91,17 cC
Carotenoi des totais	PEBD	68,46 aA	64,62 aAB	53,55 aC	55,65 aBC	68,46 aA	47,83 aC	62,47 aAB	53,26 bcBC
	PP	68,46 aA	58,12 abB	51,95 aB	56,38 aB	68,46 aA	45,18 aB	60,30 aA	66,93 aA
	PVC	68,46 aA	67,62 aA	52,61 aB	52,87 aB	68,46 aA	45,98 aB	62,80 aA	59,82 abA
	CONTROLE	68,46 aA	50,36 bB	49,63 aB	42,25 bB	68,46 aA	48,37 aB	62,06 aA	48,90 cB

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

A atmosfera interna do filme PVC apresentou níveis superior a 2 % de O₂ em ambas as temperaturas de armazenagem (Tabela 2). Como consequência, houve acelerado processo de amarelecimento dos floretes (Tabela 3), por este filme apresentar alta permeabilidade gasosa (O₂ e CO₂) e moderada ao vapor de água (MANGARAJ; GOSWAMI; MAHAJAN, 2009). Assim, esse filme permite facilmente trocas gasosas e em resposta, há um comprometimento da qualidade para comercialização e consumo deste produto (Tabela 2).

























Floretes provenientes de embalagem não selada (controle) também apresentaram acelerado processo de amarelecimento, devido ao contato direto com o ar atmosférico das câmaras, em ambas as temperaturas de armazenamento (Tabela 3). O oxigênio em altos níveis promove vários tipos de reações de deterioração nos vegetais, incluindo reações de escurecimento e degradação dos pigmentos, levando a alteração na cor (amarelecimento) consequente, diminuição da qualidade e inviabilidade na comercialização (Tabela 2) (SANDHYA, 2010).

2.3.3 Componentes de cor e clorofila total

O fator mais importante para o marketing de brócolis é a manutenção da cor verde, determinante para o consumo e uma forma de avaliação da qualidade do produto pelo consumidor. Floretes de brócolis armazenados à 14 ± 2 °C embalados com filme PEBD e PP apresentaram ao 7º dia de armazenamento menores valores de L* e C* e maiores de h°, com destaque para os embalados com PP (maior valor de h°), evidenciando a manutenção dos tons verde intenso (Tabelas 2 e 3). Quando armazenados à 22 ± 2 °C, os floretes embalados com filme PEBD e PP apresentaram maiores h° e conservação da coloração verde ao 3º dia de armazenamento (Tabela 2), demonstrando a eficiência desses filmes para a manutenção desse parâmetro de qualidade (Tabela 3). Portanto, floretes embalados com PEBD e PP mantiveram a coloração verde nas inflorescências, com taxa menor que 40 % de amarelecimento, segundo a escala de classificação de cor para brócolis (Tabela 1), para ambas as temperaturas analisadas. Porém, vale ressaltar que apesar de apresentarem a manutenção na coloração, os floretes embalados com PEBD e PP e armazenados a 22 ± 2 °C apresentaram maior acúmulo de CO₂ e diminuição nos teores de O₂. Essa condição resulta em anaerobiose, o que promove

riscos de proliferação de microrganismos e redução da vida útil (apodrecimento dos talos) após 2 dias, tornando-os inviáveis para a comercialização e consumo. Isso indica que tanto a baixa temperatura de armazenamento, quanto a atmosfera modificada passiva, são fatores importante para manter o atributo de cor em brócolis durante o período de armazenamento após a colheita.

Tabela 3. Floretes de brócolis cv. Rannapon submetidas a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 3 dias a 22 ± 2 °C e umidade relativa de $85 \pm 5\%$

DIAS	PEBD	PP	PVC	CONTROLE
14°C				
1				
3				
7				
22°C				
1				
2				
3				

Fonte: Gouveia, 2019.

Os resultados satisfatórios encontrados para a manutenção da cor em brócolis embalados com PEBD e PP, ou seja, com taxa abaixo de 40 % de amarelecimento, são ratificados pelos valores de clorofila total (Tabela 2), com valores superiores comparados aos demais tratamentos (PVC e Controle) ao longo do armazenamento, em ambas as temperaturas (Tabela 2). De forma geral, apesar

da manutenção na coloração dos floretes nos tratamentos PEBD e PP, houve reduções nos teores de clorofila total ao longo do armazenamento para todos os tratamentos. Tal redução foi mais acentuada nos brócolis embalados em filme PVC e no controle (embalagem não selada) a 14 ± 2 °C, assim como também no controle a 22 ± 2 °C (Tabela 2).

Os maiores valores de L^* e C^* e os menores valores de ângulo hue foram observados nos floretes mantidos em embalagem não selada (controle) aos três e sete dias a 14 ± 2 °C e no 1°, 2° e 3° dias a 22 ± 2 °C, indicando amarelecimento ao longo do período de armazenamento (Tabela 2 e 3). Nestas avaliações, o grau de amarelecimento atingiu a classe 4 da classificação da cor (Tabela 1), significando que os floretes estavam inviáveis para consumo e comercialização.

Assim, os brócolis armazenados sem aplicação de atmosfera modificada passiva apresentam acelerada mudança na coloração (verde para amarelo) e de forma mais acentuada sob a influência de níveis altos de O_2 (Rai et al., 2009), por estarem relacionadas a degradação de clorofila (LUCERA et al., 2011; FERNÁNDEZ-LEÓN et al., 2013; PATHARE et al., 2013).

A degradação da clorofila é a principal razão para o amarelecimento e pode determinar a vida útil do brócolis. Em consequência, observamos valores mais altos de L^* e C^* , valores menores de h° e o aparecimento de pigmentos amarelados expondo uma resposta fisiológica relacionada a velocidade no processo de senescência (PATHARE et al., 2013).

2.3.4 Carotenoides totais e perfil dos carotenoides por HPLC

Os carotenoides são um grupo de fitoquímicos associados a diferentes pigmentos de cores em vegetais. Neste estudo, todos os floretes mantidos à 14 ± 2 °C, independentemente da embalagem, apresentaram diminuição dos teores de carotenoides totais ao longo do armazenamento (Tabela 2). Os menores teores foram encontrados no tratamento controle (embalagem não selada) em ambas as temperaturas de armazenamento (Tabela 2). Em condições ambiente (22 ± 2 °C), os brócolis apresentaram diminuição mais acelerada nos níveis de carotenoides totais no 1° dia de armazenamento com e sem a aplicação da atmosfera modificada passiva (Tabela 2), com destaque para os floretes embalados nos filmes PEBD e controle (não selado), os quais apresentaram menores níveis de carotenoides totais

no 3° dia de armazenamento (53,26 e 48,90 mg 100⁻¹g) (Tabela 2). Fernández-León et al. (2013) observaram diminuição nos teores de carotenoides totais em brócolis cv. Parthenon armazenados por 12 dias a 5 °C, de forma mais acentuada em brócolis sem aplicação da atmosfera modificada passiva. Os carotenoides são exemplos comuns de compostos classificados como antioxidantes por seu importante papel que desempenham nas plantas (grupo de metabólitos secundários) e o potencial benefício positivo que conferem à saúde humana, estimulando o interesse por esse importante fitoquímico (DELLAPENNA; POGSON, 2006). A atmosfera modificada passiva é conhecida pela preservação dos níveis de fitoquímicos (Barth e Zhuang, 1996), por auxiliar na manutenção da umidade interna assim como, na elevação nos níveis de CO₂ e redução nos níveis de O₂, contribuindo para o atraso a degradação dos níveis de carotenoides no tecido durante o armazenamento pós-colheita (FARNHAM; KOPSELL, 2009; FERNANDEZ-LEÓN et al., 2013). De maneira geral, a atmosfera modificada passiva contribuiu para retardar a oxidação dos carotenoides totais em floretes de brócolis em ambas as temperaturas analisadas.

Para a análise de perfil de carotenoides via HPLC foram utilizados somente os floretes considerados viáveis a comercialização e consumo, além da taxa de amarelecimento menor que 40 % (floretes com tons verdes) (Tabela 1). Foram excluídos dessa forma, os floretes embalados em PVC e o controle (não embalados) do 7° dia de armazenamento a 14 ± 2 °C e também os floretes (todos os tratamentos) referentes ao 3° dia de armazenamento a 22 ± 2°C por apresentarem acelerada deterioração e amarelecimento.

A influência das condições de armazenamento do brócolis nos níveis do perfil de carotenoides estão apresentados na tabela 4. Elevados teores de luteína foram encontrados e houve diminuição nos teores em todos os tratamentos ao longo do armazenamento a 14 ± 2 °C, com destaque para os floretes embalados com o filme PP, com maior perda ao 3° dia (7,97 mg 100g⁻¹). Entretanto, floretes embalados com PP apresentaram altos teores de luteína ao 7° dia (15,25 mg 100g⁻¹), com aumento significativamente maior (8,6 %) comparado aos valores iniciais (0 dia) (Tabela 4).

Tabela 4. Luteína (mg 100g⁻¹), zeaxantina (mg 100g⁻¹), α -caroteno (mg 100g⁻¹), β -caroteno (mg 100g⁻¹) em floretes de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) analisados por 0, 1, 3 e 7 dias à temperatura de 14 \pm 2 °C e 0, 1 e 2 dias a temperatura de 22 \pm 2 °C e umidade relativa de 85 \pm 5 %

		14°C				22°C		
		0	1	3	7	0	1	2
Luteína	PEBD	14,04 aA	14,34 aA	12,02 bB	12,51 bB	14,04 aB	15,97 aA	15,97 aA
	PP	14,04 aB	13,31 bB	7,97 cC	15,25 aA	14,04 aB	14,20 cAB	14,35 bA
	PVC	14,04 aAB	14,46 aA	13,40 aB	-	14,04 aB	15,15 bA	12,92 cC
	CONTROLE	14,04 aA	12,77 bB	11,27 bC	-	14,04 aA	10,97 dC	11,85 dB
Zeaxantina	PEBD	0,39 aB	0,43 bA	0,28 bD	0,35 aC	0,39 aA	0,41 aA	0,41 aA
	PP	0,39 aA	0,24 dB	0,20 cC	0,38 aA	0,39 aA	0,33 bB	0,30 bB
	PVC	0,39 aB	0,57 aA	0,31 aC	-	0,39 aA	0,33 bB	0,27 cC
	CONTROLE	0,39 aA	0,28 cB	0,26 bB	-	0,39 aA	0,19 cB	0,20 dB
α -caroteno	PEBD	1,09 aA	1,10 bA	0,99 bB	1,07 bA	1,09 aB	1,35 aA	1,35 aA
	PP	1,09 aB	1,00 cC	0,50 cD	1,53 aA	1,09 aA	1,30 aA	1,23 abA
	PVC	1,09 aB	1,28 aA	1,30 aA	-	1,09 aA	1,17 aA	1,18 abA
	CONTROLE	1,09 aB	1,15 bB	1,31 aA	-	1,09 aA	0,85 bB	1,04 bAB
β -caroteno	PEBD	16,49 aC	19,74 bA	16,03 bD	17,92 bB	16,49 aB	21,61 aA	21,61 aA
	PP	16,49 aC	16,98 dB	9,98 cD	21,85 aA	16,49 aC	19,77 bA	18,51 cB
	PVC	16,49 aC	22,77 aA	20,23 aB	-	16,49 aB	19,25 cA	19,39 bA
	CONTROLE	16,49 aC	17,59 cB	20,47 aA	-	16,49 aB	16,91 dB	19,42 bA
Somatório dos carotenóides	PEBD	32,02 aB	35,62 bA	29,34 cC	31,86 bB	32,02 aB	39,35 aA	39,35 aA
	PP	32,02 aB	31,54 cB	18,66 dC	39,03 aA	32,02 aC	35,61 bA	34,40 bB
	PVC	32,02 aC	39,09 aA	35,25 aB	-	32,02 aC	35,92 bA	33,76 cB
	CONTROLE	32,02 aB	31,80 cB	33,31 bA	-	32,02 aA	28,93 cB	32,49 dA

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05)

Por outro lado, houve diminuição dos níveis desse carotenoide em floretes armazenados à 22 ± 2 °C e embalados com PVC ou em embalagem não selada (controle) (Tabela 4). Essa diminuição pode ter sido induzida pela influência da temperatura, devido ao aumento do metabolismo, com conseqüente degradação. Nesta temperatura (22 ± 2 °C), floretes embalados com PEBD e PP apresentaram elevados teores de luteína (Tabela 4), possivelmente devido as propriedades de barreira a gases (O_2 e CO_2) das embalagens, com atividade menor das enzimas oxidativas. Nestes floretes, também houve menor degradação de clorofila, menores perdas de peso, acentuada pela influência dos gases na atmosfera interna das embalagens, i.e., menores concentrações de O_2 e maiores de CO_2 (Tabela 2) que contribuíram para manutenção dos teores de luteína nos floretes.

Tanto luteína, como β -caroteno, foram os compostos majoritários das amostras analisadas. Os níveis de β -caroteno em floretes embalados com PVC após um dia a 14 ± 2 °C foram superiores em comparação com os demais filmes (Tabela 4). No brócolis, o aumento da taxa respiração após a colheita pode ser responsável pela diminuição no teor de clorofila total, no qual vai diminuindo devido à falta de nutrientes e ao tempo prolongado de armazenamento, evidenciando o amarelecimento relacionado ao carotenoide (LUO et al., 2019). Dessa forma, β -caroteno, um dos principais carotenoides em brócolis armazenados em condições de baixas temperaturas, pode influenciar na determinação da cor dos floretes (LUO, et al., 2019). No presente estudo foi verificado amarelecimento precoce dos floretes embalado com filme PVC, comparado aos demais filmes plásticos, PEBD e PP (Tabela 3).

Com o uso do PEBD a 22 ± 2 °C, isto é, não houve alteração entre o 1° e 2° dias de armazenamento e ainda, esses floretes apresentaram os maiores teores de β -caroteno, assim como, para luteína, zeaxantina e α -caroteno (Tabela 4). A maior retenção de β -caroteno no brócolis embalado com PEBD pode ser devido ao oxigênio atmosférico limitado disponível para a oxidação e, portanto, algumas enzimas podem apresentar menor atividade (HUSSEIN et al., 2000). O β -caroteno e a luteína são encontrados nas frações lipossolúveis dos sistemas biológicos e estes pigmentos protegem as membranas celulares, eliminando os radicais livres (SINGH et al., 2007), o que pode contribuir para o aumento do tempo de armazenamento e manutenção da cor verde intenso nos floretes.

Menores teores de zeaxantina foram encontrados em brócolis cv. Rannapon (Tabela 4). Os níveis de zeaxantina em floretes embalados com PP no 3º dia de armazenamento foram os menores comparados aos demais tratamentos e armazenados a 14 ± 2 °C (Tabela 4). Em contrapartida, à 22 ± 2 °C, os menores teores foram encontrados em floretes embalados com PVC no final do período de armazenamento (Tabela 4).

Floretes mantidos a 14 ± 2 °C e embalados com PEBD, PVC e embalagem não selada não apresentaram variações de α -caroteno durante o armazenamento (Tabela 4). Nas embalagens PP, houve aumento desse carotenoide no 7º dia de armazenamento ($1,53 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$). Independentemente do tipo de embalagem, floretes armazenados à 22 ± 2 °C, apresentaram aumento de α -caroteno (Tabela 4).

Analisando o somatório do perfil dos carotenoides, observou-se maiores concentrações em floretes embalados com filme PVC ao 3º dia de armazenamento ($39,09 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) e naqueles embalados pelo filme PP ao 7º dia ($39,03 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) a 14 ± 2 °C (Tabela 5). Para os floretes armazenados em temperatura ambiente (22 ± 2 °C), maiores níveis de carotenoides foram observados nos floretes embalados com filme PEBD ao longo do armazenamento.

2.3.5 Capacidade antioxidante

A atividade antioxidante dos floretes de brócolis é apresentada na tabela 5. De forma geral, todos os tratamentos armazenados à 14 ± 2 °C apresentaram diminuição na atividade antioxidante (DPPH, FRAP, compostos fenólicos e flavonoides totais) por 7 dias, assim como, naqueles armazenados em temperatura ambiente (22 ± 2 °C) por 3 dias (Tabela 5).

Avaliada pelo DPPH, a atividade antioxidante foi significativamente menor nos floretes embalados com filme PEBD e PP ao 3º dia ($742,88$ e $608,27 \text{ mg quercetina } 100^{-1}\text{g}$, respectivamente) em comparação aos embalados com filme PVC e o controle ($802,96$ e $992,27 \text{ mg quercetina } 100^{-1}\text{g}$, respectivamente) sob armazenamento a 14 ± 2 °C (Tabela 5). Esse resultado evidencia que além do filme plástico, a temperatura influencia o conteúdo de compostos bioativos. A diminuição da atividade antioxidante em brócolis frescos cv. Pushpa durante o armazenamento em baixa temperatura também foi descrito por Nath et al. (2011), demonstrando a

prevalência de reações oxidativas nos floretes submetidos a atmosfera modificada durante o armazenamento. Foi notória a diferença na atividade antioxidante medida pelo método DPPH sob a variação na temperatura de armazenamento. Em condições de temperatura ambiente (22 ± 2 °C), a atividade antioxidante não diferiu durante os 3 dias de armazenamento, em todos os tratamentos (Tabela 5).

Neste estudo, os floretes de brócolis submetidos ao armazenamento a 14 ± 2 °C apresentaram diminuição nos teores de fenóis totais em todos os tratamentos, com destaque para o filme PEBD ao 3º dia ($801,64 \text{ mg } 100^{-1}\text{g}$) e controle ao 7º dia ($765,97 \text{ mg } 100^{-1}\text{g}$) com os menores teores (Tabela 5). A diminuição no teor de fenóis totais durante o armazenamento pode ter ocorrido em consequência de oxidação catalisada por enzimas, como a peroxidase e superóxido dismutase (SERRANO et al., 2006). Os compostos fenólicos são responsáveis pela transferência de hidrogênio que neutraliza a ação e/ou sequestra os radicais livres (BREWER, 2011; SHARMA e SINGH, 2013). Assim, nessas condições houve a produção de espécies reativas de oxigênio, resultando em maior consumo de compostos fenólicos, agindo com antioxidantes. Além disso, brócolis sem aplicação da atmosfera modificada (controle, embalagem não selada) em contato direto com o ar, pode apresentar respiração mais acentuada, resultando num aumento de reações oxidativas (Izumi et al., 1996) e, portanto, induzir a degradação ou oxidação de compostos fenólicos (VALLEJO, GARCÍA-VIGUERA et al., 2003). Essa mesma resposta foi observada nos floretes armazenados a 22 ± 2 °C, isto é, houve diminuição nos teores de fenóis totais em todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento (Tabela 5). Esses resultados também foram observados por Vallejo et al. (2003), Serrano et al. (2006), Fernández-Léon et al. (2013), He et al. (2018) e Phong et al. (2018), os quais descrevem diminuição dos níveis de compostos fenólicos durante o armazenamento, independentemente das condições de temperatura e filmes plásticos aplicados nas inflorescências de brócolis, atribuídos ao aumento no metabolismo e atividade respiratória e, oxidação de compostos.

Houve diminuição nos teores de flavonoides totais para todos os tratamentos avaliados a 14 ± 2 °C ao longo do período de armazenamento, com menores teores nos filmes PEBD ao 3º dia ($101,58 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) e controle ao 7º dia ($97,55 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) (Tabela 5).

Tabela 5. Atividade antioxidante: DPPH (mg quercetina 100g⁻¹), fenóis totais (mg ácido gálico 100 g⁻¹), flavonoides totais (mg 100g⁻¹), e FRAP (mol quercetina 100g⁻¹) em floretes de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 3 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5%

		14 °C				22 °C			
		0	1	3	7	0	1	2	3
DPPH	PEBD	1371,04 aA	1403,48 aA	742,88 bB	372,61 aC	1371,04 aA	1188,38 abA	1191,33 cA	1088,81 bA
	PP	1371,04 aA	1239,41 aA	608,27 bB	389,56 aC	1371,04 aA	1268,40 aA	1216,03 bcAB	1363,70 aA
	PVC	1371,04 aA	1330,31 aA	802,96 aB	515,31 aC	1371,04 aA	1157,95 bB	1302,80 abAB	1429,42 aA
	CONTROLE	1371,04 aA	1268,45 aA	992,27 aB	491,69 aC	1371,04 aA	1200,00 abAB	1358,15 aA	1318,07 aA
Fenóis totais	PEBD	1032,74 aA	951,67 aB	801,64 cC	911,06 aB	1032,74 aA	681,87 bC	782,09 aB	853,40 abB
	PP	1032,74 aA	956,23 aA	855,86 bcB	862,91 aB	1032,74 aA	774,20 aC	742,29 aC	927,70 aB
	PVC	1032,74 aA	965,26 aAB	924,45 abB	925,96 aB	1032,74 aA	710,30 abC	779,84 aBC	856,41 aB
	CONTROLE	1032,74 aA	907,22 aB	951,39 aB	765,97 bC	1032,74 aA	682,85 bB	740,54 aB	767,45 bB
Flavonoides totais	PEBD	152,76 aA	128,88 abB	101,58 cC	122,06 abB	152,76 aA	107,86 abBC	112,47 aB	95,09 cC
	PP	152,76 aA	117,77 bB	111,29 bcB	106,76 bcB	152,76 aA	121,79 aB	115,06 aB	146,76 aA
	PVC	152,76 aA	140,45 aB	120,46 abC	134,47 aB	152,76 aA	95,17 bC	118,54 aB	127,99 bB
	CONTROLE	152,76 aA	121,04 bB	130,75 aB	97,55 cC	152,76 aA	107,44 abB	105,54 aB	102,69 cB
FRAP	PEBD	60,97 aA	54,21 bcB	44,78 bC	45,89 bC	-	-	-	-
	PP	60,97aA	60,38 abA	42,79 bB	46,31 bB	-	-	-	-
	PVC	60,97 aA	62,68 aA	52,62 aB	52,93 abB	-	-	-	-
	CONTROLE	60,97 aA	50,34 cC	57,10 aAB	50,50 aBC	-	-	-	-

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

Dentre os filmes plásticos analisados, floretes embalados em PVC apresentaram a menor perda de flavonoides. A mesma resposta foi encontrada nas amostras submetidas a 22 ± 2 °C. Entretanto, quando foi usado PEBD, PVC e embalagem aberta (controle), houve diminuição nos teores de flavonoides totais durante o armazenamento. Floretes embalados com PP apresentaram maiores teores ($146,76 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) no 3° dia de armazenamento (Tabela 5), enquanto que brócolis embalados com PEBD e o controle apresentaram os menores teores de flavonoides ao 3° dia (Tabela 5).

Avaliada pelo método FRAP, a atividade antioxidante nos floretes com e sem a aplicação da atmosfera modificada passiva apresentou reduções ao longo do período de armazenamento a 14 ± 2 °C, corroborando os resultados encontrados para DPPH, compostos fenólicos e flavonoides (Tabela 5). Os floretes de brócolis responderam significativamente a aplicação de atmosfera modificada passiva a 22 ± 2 °C no filme PP mostrando ser eficiente na manutenção de maiores níveis de antioxidantes ($66,44 \text{ mol quercetina } 100 \text{ g}^{-1}$) medidos pelo FRAP. Maiores concentrações de antioxidantes nesta temperatura foram observadas no 1° dia de armazenamento ($69,33 \text{ mol de quercetina } 100\text{g}^{-1}$).

Os resultados obtidos com os diferentes métodos de avaliação da atividade antioxidante em floretes de brócolis mostraram uma mistura de vários compostos antioxidantes, com diferentes mecanismos de ação e interações entre eles e o meio. A aplicação da atmosfera modificada passiva e as variações de temperatura de armazenamento podem induzir a síntese de metabólitos com propriedades antioxidantes, como a ativação da biossíntese fenólica. Em brócolis cv. Parthenon foi observada diminuição significativa na atividade antioxidante durante o período de armazenamento, tanto na atmosfera controlada, quanto na modificada (FERNÁNDEZ-LEÓN et al., 2013). Estudos realizados com a cv. Marathon armazenado sob condições de atmosfera modificada passiva a 1° C, mostraram que houve manutenção da atividade antioxidante ao longo dos 28 dias (SERRANO et al., 2006). Segundo relatos encontrados na literatura, diferenças genéticas entre cultivares parecem ser um fator determinante na atividade antioxidante em brócolis durante o armazenamento refrigerado. Variações entre cultivares na resposta ao estresse causado por condições de armazenamento foram observadas por Serrano et al., 2006; Fernández-León et al., 2013; Villarreal-García et al., 2016.

2.3.6. Análise de componentes principais (PCA)

Para obter uma melhor compreensão das tendências e relações entre as diversas variáveis estudadas para os diferentes tratamentos (com e sem aplicação de atmosfera modificada passiva nos floretes de brócolis armazenados a 14 e 22 ± 2 °C, a análise de componentes principais (PCA) foi aplicada (Figura 1 e 2).

A PCA aplicada nos resultados obtidos das amostras submetidas ao armazenamento a 14 ± 2 °C (Figura 1) identificou dois componentes principais (PC1 e PC2), que explicaram 79,08 % da variabilidade total. O gráfico biplot (PC1XPC2) obtido a partir de dados quantitativos apresentou as características ângulo hue (h°), clorofila total (Clr), carotenoides totais (Crt), luteína (Lut), zeaxantina (Zex), α caroteno (αCrt) e β-caroteno (βCrt) agrupados na PC1+. Por outro lado, luminosidade (L*), cromaticidade (C*) e perda de peso foram agrupadas na PC1- e foram as características que mais contribuíram na separação dos tratamentos pela PC1, que explicou 56,69 % da variância (Figura 1).

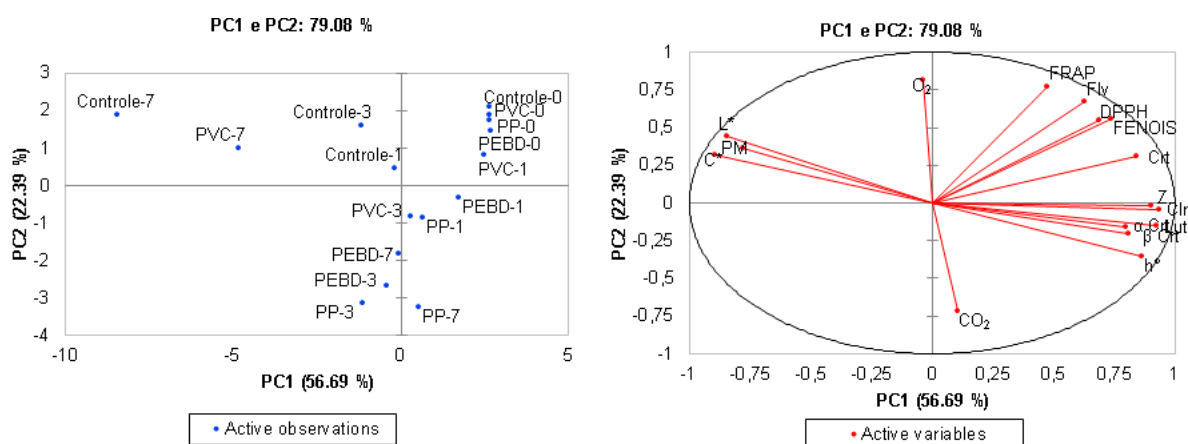


Figura 1. Análise de componentes principais (PC1 e PC2) dos floretes de brócolis cv. Rannapon com a aplicação de atmosfera modificada passiva (PEBD, PP, PVC e Controle) a 14 ± 2 °C, por 7 dias. Abreviaturas das variáveis analisadas: Composição gasosa (O₂ e CO₂); atributos da cor (L*: luminosidade; C*: cromaticidade; h°: ângulo hue); Clr: clorofila total; Crt: carotenoides totais; carotenoides (Zea: zeaxantina; Lut: luteína; αCrt: α caroteno; βCrt: βcaroteno); atividade antioxidante (Flv: flavonoides totais; FRAP; DPPH; Fenois: compostos fenólicos).

PC1 demonstraram que as amostras de brócolis no início do armazenamento (0 e 1° dia) (PC1+) apresentaram alta atividade antioxidante, atribuída aos fenóis

totais ($r = 0,55$, $p < 0,05$), FRAP ($r = 0,6$, $p < 0,05$), flavonoides totais ($r = 0,45$, $p < 0,05$), DPPH ($r = 0,47$, $p < 0,05$) e carotenoides totais ($r = 0,71$, $p < 0,05$) em todos os tratamentos analisados (Figura 1, Tabelas 4 e 5). Entretanto, a atividade antioxidante dos floretes submetidos aos filmes PEBD e PP ao longo do armazenamento apresentaram diminuição do potencial antioxidante ao longo do armazenamento (Figura 1 e Tabela 4 e 5).

A segunda componente principal (PC2) explicou 22,39 % da variância total explicada pela composição gasosa e o oxigênio (O_2) foi efetivo em separar os floretes contidos nos filmes plásticos PVC e controle daqueles contidos pelos PEBD e PP. A análise de PC2 permite sugerir uma forte contribuição da composição gasosa O_2 ($r = 0,67$, $p < 0,05$) (loading positivo) e CO_2 ($r = 0,52$, $p < 0,05$) (PC2-) na separação dos tratamentos, que neste caso, indicam a influência do material plástico escolhido, quanto à permeabilidade a trocas gasosas, conferindo valores médios mais elevados para CO_2 e mais baixos de O_2 (Figura 1, Tabela 2). Essa distinção sugere que os floretes embalados com os filmes PVC e o controle ao longo do armazenamento apresentaram maiores valores de luminosidade, cromaticidade, perda de peso (PC2+) e menores valores de ângulo hue (PC2-), indicando não serem eficientes na preservação da qualidade (atributos de cor e perda de peso), com amarelecimento e rápida senescência dos floretes (Tabela 2 e 3).

A PCA aplicada identificou dois componentes principais após a análise dos brócolis mantidos a 22 ± 2 °C, com 64,19 % da variabilidade total (PC1 e PC2) (Figura 2). O primeiro componente (PC1), representando 38,03 % foi fortemente correlacionado aos teores de clorofila totais ($r = 0,82$, $p < 0,05$), componentes da cor (L^* ($r = 0,48$, $p < 0,05$), C^* ($r = 0,62$, $p < 0,05$), h° ($r = 0,84$, $p < 0,05$)) e perda de peso ($r = 0,71$, $p < 0,05$) (Figura 2).

No início do armazenamento (0 dia) todos os tratamentos mostraram uma associação positiva relacionada com a atividade antioxidante (fenóis, flavonoides, DPPH, clorofila e carotenoides totais) (PC1+), com elevados valores associados (Tabelas 2 e 5). Da mesma forma, foi observado que floretes embalados com os filmes PEBD e PP apresentaram altos níveis em carotenoides (α , β , luteína, zeaxantina), FRAP e h° (PC1+) principalmente no 1° e 2° dia de armazenamento (Figura 2, Tabelas 2, 4 e 5).

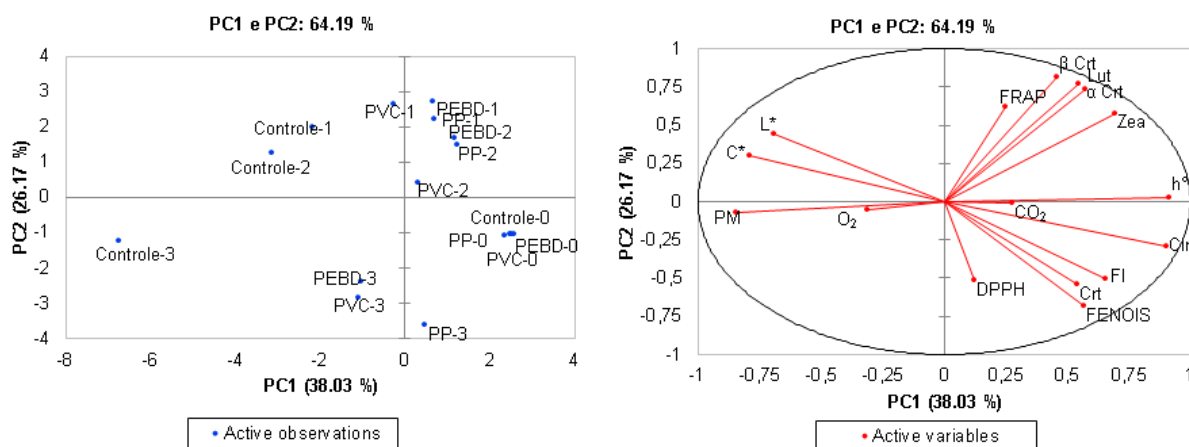


Figura 2. Análise de componentes principais (PC1 e PC2) dos floretes de brócolis cv. Rannapon com a aplicação de atmosfera modificada passiva (PEBD, PP, PVC e Controle) a 22 ± 2 °C, por 3 dias. Abreviaturas das variáveis analisadas: Composição gasosa (O₂ e CO₂); atributos da cor (L*: luminosidade; C*: cromaticidade; h°: ângulo hue); Clr: clorofila total; Crt: carotenoides totais; carotenoides (Zea: zeaxantina; Lut: luteína; αCrt: α caroteno; βCrt: βcaroteno); atividade antioxidante (Flv: flavonoides totais; FRAP; DPPH; Fenois: compostos fenólicos).

A segunda componente principal (PC2) representando 26,17 %, foi efetiva em mostrar a preservação/manutenção dos compostos antioxidantes, carotenoides (luteína ($r = 0,55$, $p < 0,05$), zeaxantina ($r = 0,48$, $p < 0,05$), α ($r = 0,59$, $p < 0,05$) e β caroteno ($r = 0,67$, $p < 0,05$)) e FRAP ($r = 0,40$, $p < 0,05$) (PC2+) nos floretes submetidos à todos os filmes plásticos (PEBD, PP, PVC e controle) ao 3° dia de armazenamento (Tabela 2, Figura 2). Entretanto, floretes submetidos ao controle por 3 dias armazenados apresentaram maiores concentrações de O₂ (PC2-) (tabela 2), que justificam a rápida deterioração e amarelecimento dos brócolis ao longo do armazenamento em temperatura ambiente (Figura 2, Tabela 3). Maiores concentrações de CO₂ foram verificados nos filmes PP por todo o período armazenado (Tabela 2, Figura 2) que contribuíram para produção de substâncias voláteis causando odor desagradável e apodrecimento do talo.

2.4 CONCLUSÃO

A aplicação da atmosfera modificada passiva, com uso de filmes plásticos PEBD e PP, atrasam o processo de senescência nos floretes de brócolis diminuindo os níveis de oxigênio, elevando os níveis de CO₂, diminuindo a perda de peso e a

degradação da clorofila e conseqüentemente, retardando o amarelecimento em ambas temperaturas estudadas. Esses filmes plásticos mostraram sua eficácia em relação a esses quesitos acima mencionados, porém, vale ressaltar que a atividade antioxidante medida pelos vários métodos mostrou que a aplicação da atmosfera modificada passiva e as variações de temperatura de armazenamento podem induzir a síntese de metabólitos com propriedades antioxidantes, como a ativação da biossíntese fenólica. Entretanto, apesar dos filmes plásticos (PEBD e PP) apresentarem eficácia na manutenção da aparência nos brócolis, quando submetidos a altas temperaturas (22 ± 2 °C) houve maior acúmulo de CO_2 e diminuição nos teores de O_2 , induzindo condições de anaerobiose que provocaram redução na vida útil (apodrecimento dos talos) após 2 dias, tornando-os inviáveis para a comercialização e consumo. Dentre todos estes fatores, brócolis armazenados a 14 ± 2 °C embalados com filme PEBD e PP mostraram-se com melhor qualidade comercial e menor degradação dos compostos bioquímicos essenciais para nutrição humana. Os floretes submetidos ao armazenamento em PVC e controle (embalagem não selada) apresentaram senescência mais acelerada, com degradação dos compostos fitoquímicos em ambas as temperaturas avaliadas, mostrando a inviabilidade para comercialização de brócolis embalados nestes materiais.

2.5 REFERÊNCIAS

ARES, G. et al. Sensory shelf life of shiitake mushrooms stored under passive modified atmosphere. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 1645-1652, 2006.

BARTH, M.M., ZHUANG, H. Packaging design affects antioxidant vitamin retention and quality of broccoli florets during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**.v. 9, p.141–150, 1996.

BENZIE, I. F.F; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C.; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

- BREWER, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v.10, p.221–247, 2011.
- CALEB, O. J. et al. Integrated modified atmosphere and humidity package design for minimally processed Broccoli. **Postharvest Biology and Technology**. 121, p. 87-100, 2016.
- CASTELLANOS, D. A. et al. Modelling the evolution of O₂ and CO₂ concentrations in MAP of a fresh product: Application to tomato. **Journal of Food Engineering**, v. 168, p. 84-95, 2016.
- DEL NOBILE, M.A. et al. Use of biodegradable films for prolonging the shelf-life of minimally processed lettuce. **Journal of Food Engineering** v. 85, p. 317–325, 2008.
- DELLAPENNA, D. AND B.J. POGSON. Vitamin synthesis in plants: Tocopherols and carotenoids. **Annual Review Plant Biology**. v.57, p.711–738, 2006.
- EASON, J. R. et al. Harvested broccoli (*Brassica oleraceae*) responds to high CO₂ and low O₂ atmosphere by inducing stress–response genes. **Postharvest Biology and Technology**, v.43, p. 358–365, 2007.
- FARNHAM, M. W.; KOPSELL, D.A. Importance of genotype on carotenoid and chlorophyll levels in broccoli heads. **HortScience**, v. 44, n.5, p. 1248-1253, 2009.
- FERNÁNDEZ-LEÓN, M.F. et al. Retention of quality and functional values of broccoli Parthenon stored in modified atmosphere packaging. **Food Control** v.31 n.2, p.302–313, 2013a.
- FERNÁNDEZ-LEÓN, M.F et al. Altered commercial controlled atmosphere storage conditions for Parthenon broccoli plants (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) influence on the outer quality parameters and on the health-promoting compounds. **LWT – Food Science and Technology**. v.50, n. 2, p.665–672, 2013b.
- FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e agrotecnologia**. [online]. 2014, vol.38, n.2 [citado 2015-10-17], pp. 109-112 .
- FINGER, F. L.; FRANÇA, C.F.M. Pré-resfriamento e conservação de hortaliças folhosas. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 51. Viçosa: ABH.S5793-S5812, **Horticultura Brasileira**, v.29, n. 2, (Suplemento - CD ROM), 2011.
- HE, Q.; XIAO, K. Quality of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) in modified atmosphere packaging made by gas barrier-gas promoter blending materials. **Postharvest Biology and Technology**, v.144, p. 63-69, 2018.
- IZUMI, H. et al. Optimum O₂ or CO₂ atmosphere for storing broccoli inflorescences at various temperatures. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.121, p.127-131, 1996.

JIA, C-G. et al. Effect of modified atmosphere packaging on visual quality and glucosinolates of broccoli florets. **Food Chemistry**, v.114, p. 28–37, 2009.

KADER, A. A.; CANTWELL, M. Produce Quality Rating Scales and Color Charts. Postharvest Technology Research and Information Center, UC Davis, Postharvest Horticultural Series n. 23-CD room, 2004.

KADER, A.A. Postharvest biology and technology: an Overview. In: KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. Davis: University of California, p.43-54, 2002.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymology**, v.148, p. 350-382, 1987.

LUCERA, A. et al. Fresh-cut broccoli florets shelf-life as affected by packaging film mass transport properties. **Journal of Food Engineering**, v. 102, p. 122–129, 2011.

LUO, F. et al. Chlorophyll degradation and carotenoid biosynthetic pathways: Gene expression and pigment content in broccoli during yellowing. **Food Chemistry**, 297, 124964, 2019.

MANGARAJ, S.; GOSWAMI, T.K.; MAHAJAN, P. V. Applications of plastic films for modified atmosphere packaging of fruits and vegetables: a review. **Food Engineering Reviews**. v.1, p. 133-158, 2009.

NATH, A. et al. Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. **Food Chemistry**, v.127, p.1510–1514, 2011.

PATHARE, P. B., OPARA, U. L., AL-SAID, F. A. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food Bioprocess Technology**, v. 6, p. 36-60, 2013.

PAULSEN, E. et al. Effect of temperature on glucosinolate content and shelf life of ready-to-eat broccoli florets packaged in passive modified atmosphere. **Postharvest Biology and Technology**, v.138, p.125-133, 2018.

PHUONG, N.T.H.; UCHINO, T.; TANAKA, F. Effect of Packaging Films on the Quality of Broccoli. **Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University**, v. 63, p. 339–346, 2018.

POPOVA, M. et al. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochemical Analysis**, v.15, p. 235-240, 2004.

RAI, D.R. et al. Chromatic Changes in Broccoli (*Brassica oleracea italica*) under Modified Atmospheres in Perforated Film Packages. **Food Science Technology International**, v.15, p. 387- 395, 2009.

SANDHYA, B. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 381-392, 2010.

SERRANO, M. et al. Maintenance of broccoli quality and functional properties during cold storage as affected by modified atmosphere packaging. **Postharvest Biology and Technology**, v.39, p. 61–68, 2006.

SHARMA, P.; SINGH, R.P. Evaluation of antioxidant activity in foods with special reference to TEAC method. **American Journal of Food Technology**, v.8, p.83 101, 2013.

SINGH, S. et al. Influence of Modified Atmosphere Packaging (MAP) on the Shelf Life and Quality of Broccoli During Storage. **Journal of Packaging Technology and Research**. v. 2, n.2, p. 105-113, 2018.

SINGLETON, V.L.; ROSSI JR, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdenic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.

VALLEJO, F., GARCÍA-VIGUERA, C., & TOMÁS-BARBERÁN, F. Health-promoting compounds in broccoli as influenced by refrigerated transport and retail sale period. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.3029-3034, 2003.

VILLARREAL-GARCIA, D. et al. Plants as Biofactories: Postharvest Stress-Induced Accumulation of Phenolic Compounds and Glucosinolates in Broccoli Subjected to Wounding Stress and Exogenous Phytohormones. **Frontiers in Plant Science**. v.7, article 45, 2016.

CAPÍTULO III - ATMOSFERA MODIFICADA PASSIVA MODIFICA OS NÍVEIS DE DOPAMINA E POLIFENÓIS EM BROCOLIS

RESUMO

O consumo de brócolis apresenta benefícios à saúde por ter na composição compostos fitoquímicos com potencial antioxidante que atuam principalmente na proteção contra danos oxidativos a componentes celulares. Entretanto, devido ao curto prazo pós-colheita, menor que três dias em condições de armazenamento em temperatura ambiente, faz-se necessário a aplicação de tecnologias de conservação que possam prolongar a vida útil, manter a qualidade comercial, nutricional e funcional do brócolis. O objetivo do estudo foi analisar o efeito da aplicação da atmosfera modificada passiva sobre os níveis de polifenóis e aminas biogênicas em brócolis cv. Rannapon, armazenados sob diferentes temperaturas ($14 \pm 2^\circ\text{C}$ por 7 dias e a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ por 2 dias). Utilizou-se quatro diferentes filmes plásticos: polietileno de baixa densidade (PEBD) de 50 μm , polipropileno (PP) de 50 μm e policloreto de vinila (PVC) de 20 μm , selados após embalados os floretes, e como controle o filme de polietileno de baixa densidade 25 μm de espessura (embalagem não selada). Dentre os resultados, a aplicação de filmes plásticos foi efetiva na conservação e manutenção da qualidade comercial e funcional de brócolis cv. Rannapon em condições de armazenamento refrigerado. Os filmes PEBD e PP se destacaram por manterem elevados os níveis de ácidos fenólicos, espermina, espermidina e dopamina em floretes de brócolis. Contudo, foi notório o aumento nos níveis de kaempferol, quercetina, O-metilquercetina e rutina em floretes submetidos à atmosfera modificada passiva em condições de temperatura ambiente. Brócolis mantidos em embalagens seladas apresentaram diminuição nos níveis de putrescina comparado a embalagem não selada, significando aumento da vida pós-colheita. Dopamina e serotonina apresentaram concentrações expressivas nos floretes submetidos a atmosfera modificada em ambas as temperaturas de armazenamento. A atmosfera modificada passiva manteve os teores de ácido ascórbico (vitamina C), comparado ao armazenado em embalagens não seladas. A atmosfera modificada aplicada em brócolis manteve os níveis de bioativos, garantindo os benefícios à saúde e de ações preventivas ao desenvolvimento de doenças.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *Italica*; antioxidantes; poliaminas, vitamina C.

ABSTRACT

Broccoli consumption is known to provide some health benefits, since its phytochemicals compounds present antioxidant potential that mainly act against oxidative damage to cellular components. But broccoli has a short postharvest period, that is, less than three days under storage conditions at room temperature; therefore, requiring postharvest technologies to extend the shelf life, as well as maintaining its commercial, nutritional and functional quality. Hereupon this study aimed to assess the effect of passive modified atmosphere packaging on polyphenol and biogenic amine levels in broccoli cultivar Rannapon, stored at different temperatures ($14 \pm 2^\circ\text{C}$ for 7 days and at $22 \pm 2^\circ\text{C}$ for 2 days). Thereby, four different cling films were selected: 50 μm low density polyethylene (LDPE); 50 μm polypropylene (PP); 20 μm polyvinyl chloride (PVC), sealed after packaging the florets; and polyethylene film, as a control, low density 25 μm (unsealed package). Results indicated that cling films were more effective in conserving and maintaining the commercial and functional quality of broccoli cv. Rannapon under refrigerated storage conditions. Furthermore, LDPE and PP cling films kept the highest levels of phenolic acids, spermine, spermidine and dopamine in broccoli florets. However, broccoli florets showed an increase in the levels of kaempferol, quercetin, 3-O-methyl quercetin and rutin, when submitted to passive modified atmosphere under room conditions. Besides broccoli kept in sealed packages showed a decrease in putrescine levels compared to unsealed packages; consequently, enhancing its postharvest life. Furthermore, broccoli florets presented a significant amount of dopamine and serotonin under passive modified atmosphere at both storage temperatures. Also, passive modified atmosphere maintained the contents of ascorbic acid (vitamin C) compared to unsealed packages. Lastly, passive modified atmosphere maintained bioactive levels in broccoli; thus, ensuring health benefits and preventive actions to avoid occurrence of disease.

Keywords: *Brassica oleracea* var. *Italica*; antioxidants; polyamines, vitamin C.

3.1 INTRODUÇÃO

Muitas hortaliças são fontes de fitoquímicos e consumi-las asseguram bem-estar e benefícios à saúde. Algumas brássicas, como o brócolis (*Brassica oleracea* var. *Italica*), foram amplamente estudadas e os resultados mostram que o consumo fornece polifenóis como quercetina e kaempferol, carotenoides (β -caroteno, luteína), vitamina C e minerais (WILLIANS, et al., 2008). Dessa forma, sua ingestão pode ajudar a proteger o organismo contra alguns danos causados por espécies reativas de oxigênio (EROS), prevenindo doenças como o câncer, inflamações, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas e a depressão (KHALAJ et al., 2013; MA et al., 2014).

Após colhido, os floretes de brócolis manifestam rápida senescência em condições de armazenamento à 20 °C (XU et al., 2016), apresentando degradação da clorofila (mudança de cor - tons verdes para o amarelado) e diminuição no conteúdo nutricional, os quais afetam sua qualidade e posterior comercialização (JIN et al., 2015). Embalar os floretes em filmes plásticos apropriados gera uma atmosfera modificada passiva que pode ser uma boa ferramenta para manter a qualidade e diminuir os efeitos causados pelo processo natural de senescência. Esta técnica controla a atmosfera interna que leva em consideração a respiração do vegetal e a permeabilidade da embalagem aos gases (O_2 e CO_2), um estímulo ao aumento de CO_2 e redução de O_2 , os quais estão relacionados com os atributos sensoriais e a extensão da vida útil (PHOUNG et al., 2018). Portanto, é primordial a escolha de um filme plástico apropriado que promova ou mantenha boas condições atmosféricas e evite níveis extremamente baixos de O_2 e altos níveis de CO_2 , que possam induzir condições de anaerobiose e conseqüentemente, a degradação do produto.

Os polifenóis são antioxidantes naturais produzidos pelas plantas a partir do metabolismo secundário em resposta à influência de fatores abióticos e bióticos (THOMAZ et al., 2018). Em brócolis já foram detectados ácidos fenólicos (ácidos hidroxicinâmicos) e flavonoides (quercetina e kaempferol) (CARTEA et al., 2011). Estes compostos têm a capacidade de neutralizar reações oxidativas que acontecem em resposta às EROS, além de servirem como substratos para as outras reações enzimáticas (CARTEA et al., 2011). Relacionados à dieta humana, os polifenóis contribuem ativamente como antioxidante e pró-oxidantes na prevenção

de doenças, devido principalmente à presença dentre os inúmeros compostos como a quercetina e kaempferol seus derivados, como quercetina-3-O-sophoroside e kaempferol-3-O-sophoroside (VALLEJO et al., 2002).

Outro importante antioxidante encontrado em vegetais é a vitamina C, composta por ácido L-ascórbico e L-dehidroascórbico. É uma vitamina hidrossolúvel, que juntamente com o β -caroteno (pró-vitamina A) forma antioxidantes que auxiliam na neutralização dos radicais livres (LIMA et al., 2006). A vitamina C aumenta de forma direta e/ou indireta os níveis endógenos dos antioxidantes. Mazza et al. (2000) relatam que a presença do ácido ascórbico pode inibir a degradação oxidativa do flavonoide quercetina, atuando de sinergicamente, como protetor. Outros relatos descrevem a importância dos níveis de ácido ascórbico na retenção e manutenção da cor verde em vegetais folhosos e frutos, assim como em brócolis, um atributo de qualidade indispensável para a comercialização (ANSORENA et al., 2009).

As aminas biogênicas são aminas alifáticas biologicamente ativa encontradas em todos os seres vivos. Em plantas, participam de inúmeros processos metabólicos como crescimento, divisão celular, bem como, atuam como marcadores bioquímicos em respostas a estresses abióticos (GROPPIA; BENAVIDES, 2008). Exemplos dessas aminas biogênicas temos a putrescina (PUT), uma diamina e as poliaminas espermina (ESM), espermidina (ESD), oriundas da descarboxilação do S-adenosilmetionina (SAM) pela SAM-descarboxilase (SAMDC), competindo com o etileno pelo mesmo substrato (KALAC, 2014). Essas poliaminas apresentam alto potencial antioxidante, por funcionar como sequestradoras de radicais livres, além de atuarem na redução dos danos oxidativo induzido pela EROS (PALMA et al., 2016). Brócolis quando colhido, seus botões florais estão imaturos e em fase de crescente desenvolvimento, sensível a fatores de estresse, que podem levar a elevada produção de etileno. Essas aminas e etileno, devido ao mesmo precursor, compartilham do SAM e criam uma interação competitiva entre elas. O SAM pode ser convertido em ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) pela ACC sintase e depois em etileno, um regulador de crescimento associado à senescência (BREGOLI et al., 2005). Assim, maiores teores das aminas (SPD e SPM são esperados em Células jovens e dependendo de suas concentrações, podem ser relevantes não apenas para a vida útil e a qualidade do produto para comercialização, mas também para a saúde humana (KALAC, 2014).

Dessa forma, foram estudados a aplicação de diferentes filmes plásticos sob atmosfera modificada passiva submetidos ao armazenamento refrigerado a $14 \pm 2^\circ\text{C}$ e em condições ambiente a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, com potencial de manutenção das propriedades antioxidantes em floretes de brócolis cv. Rannapon.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS






Inflorescências de brócolis frescos (*Brassica oleraceae* L. var. *Itálica* cv. Rannapon), oriundas de cultivo convencional na região de Botucatu/SP, Brasil (latitude de $23^\circ 5' 3''$ Sul, longitude de $48^\circ 22' 38''$ Oeste e altitude de 895 m) foram colhidas em fase de maturidade comercial. As inflorescências foram selecionadas, separadas uniformemente de acordo com o tamanho, cor e ausência de injúrias. Após higienização por imersão em solução de hipoclorito de sódio (StartClor® 0,5 %), os brócolis foram secos a temperatura ambiente e separados em dois experimentos, de acordo com as condições de temperatura de armazenamento. No experimento I, os floretes foram armazenadas a temperatura de $14 \pm 2^\circ\text{C}$ para simulação das condições de comercialização refrigerada, com umidade relativa de $85 \pm 5\%$; e no experimento II, foram armazenados a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ para simulação de comercialização em condições de temperatura ambiente, com umidade relativa de $85 \pm 5\%$.

Em ambos os experimentos, cada grupo constituiu-se de 300 gramas de inflorescências embaladas em diferentes filmes plásticos, em triplicata, isto é, polietileno de baixa densidade (PEBD - 50 μm de espessura, 25 x 45 cm – Olimplastic®); polipropileno (PP - 50 μm de espessura e 25 x 45 cm - Olimplastic®) e policloreto de vinila (PVC - 20 μm - AlpFilms®), todos fechados em seladora pedal (Everest, modelo XIII). No grupo controle, as inflorescências foram armazenadas em polietileno de baixa densidade (PEBD - 25 μm), com embalagem aberta (não selada).

Foi realizada a determinação da viabilidade e comercialização dos floretes com base nos parâmetros de cor para brócolis de cabeça única propostos por Kader & Cantwell (2004), seguindo-se a escala de classificação de cor de brócolis (*Brassica oleraceae* L. var. *Itálica* cv. Rannapon). Esta escala de classificação considera floretes com até 40 % de amarelecimento viáveis para comercialização e

consumo (classe 3) e acima deste percentual são considerados impróprios (classe 4 e 5) (Tabela 1).

Tabela 1. Escala de cor com valores correspondentes (L^* , C^* e h°) para determinação de viabilidade e comercialização de brócolis cv. Rannapon.

Classes		L^*	C^*	h°	
1	Verde escuro (100 % verde)		49,82	20,85	113,18
2	Verde claro (20 % amarelado)		51,55	21,78	105,03
3	Verde amarelado (40 % amarelado)		55,55	24,60	99,12
4	Amarelo esverdeado (60 % amarelado)		56,58	25,39	91,08
5	Amarelo (100 % amarelado)		57,07	26,59	90,21

Média de 10 repetições em cada estágio de cor. Fonte: Gouveia, 2019.

De acordo com a escala de determinação da viabilidade e comercialização dos floretes (Tabela 1), com base nos parâmetros de cor, floretes com percentual acima de 40 % de amarelecimento foram excluídos para a análise, por serem considerados inviáveis para comercialização e consumo. Portanto, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 4 (embalagens x dias de armazenamento) em triplicata. As avaliações iniciaram-se após três horas das inflorescências estarem embaladas (dia 0), seguidos por sete dias de armazenamento (0, 1, 3 e 7) na temperatura de 14 ± 2 °C, UR 85 ± 5 %, excluídos os floretes embalados em PVC e o controle (embalagem aberta, não selado) ao 7° dia de armazenamento, e por três dias de armazenamento (0, 1, 2) em temperatura de 22 ± 2 °C, UR 85 ± 5 %.

3.2.1 Preparo das amostras para as análises

As amostras de cada grupo dos experimentos I e II foram congeladas em nitrogênio líquido e liofilizadas (liofilizador de bancada (LD 1500, Terroni®). Foram determinados o peso fresco (antes da liofilização) e seco (amostras liofilizada). Após serem pulverizadas com auxílio do moinho criogênico (IKA® do Brasil, Ika Mills A11), as amostras foram armazenadas em freezer - 80 °C.

3.2.2 Perfil dos compostos bioativos por UPLC (Cromatografia Líquida de Ultra Performance)

A análise cromatográfica foi realizada para identificação e quantificação dos perfis de polifenóis, poliaminas, ácido ascórbico e dehidroascórbico predominantes nas inflorescências de brócolis, quanto à aplicação da atmosfera modificada passiva em diferentes temperaturas (experimento I: 14 ± 2 °C e experimento II: 22 ± 2 °C) e períodos de armazenamento.

3.2.3 Perfil de Polifenóis

Para análise do perfil de polifenóis foi utilizada cromatografia líquida de ultra performance (UPLC), em equipamento Thermo Scientific™ UltiMate™ 3000 com detector fotodiodo, usando coluna C18. A extração e determinação foram baseadas no método descrito por Escarpa e Gonzalez (1999), com adaptações. Foram pesados 1000 mg de amostra liofilizada e extraídos três vezes com 2 mL de metanol acidificado (80 metanol: 1 acetato: 19 água; v:v:v). Na primeira extração, foi realizada agitação durante 1 min, seguido de banho ultrassônico por uma hora. Nas extrações seguintes, o precipitado foram resuspendidos no mesmo extrator, submetidos a agitação em vortex por 1 min e centrifugados por 15 minutos a 4000 rpm a 4°C. Os sobrenadantes foram separados e ao final, foram misturados, filtrados em PVDF (0,45 µm) e injetados (20 µL) em UPLC. A separação foi realizada por meio de um gradiente de concentração das fases móveis: (A) metanol (100%) e (B) ácido fosfórico 0,01 M, com fluxo de $0,6 \text{ ml min}^{-1}$. O gradiente utilizado foi distribuído na seguinte proporção: 0-5 minutos, A 5%, B 95%; 5-10 minutos, A 5-50%, B 95-

50%; 10-15 minutos, A 50-70%, B 50-30%; 15-20 minutos, A 70-80%, B 30-20%; 20-25 minutos, A 80-100%, B 20-0%; 25-30 minutos, A 100-5%, B 0-95%; 30-35 minutos, A 5%, B 95%. A temperatura da coluna foi mantida a 25 °C. Foram utilizados os comprimentos de onda 280 nm, 320 nm e 360 nm, compreendendo os espectros de absorção para ácidos hidroxibenzóicos, hidroxicinâmicos e flavonoides, respectivamente. Foram utilizados os padrões polifenólicos (Sigma-Aldrich®): kaempferol; rutina; quercetina; 3-O-metilquercetina; luteolina; ácido gálico e ácido clorogênico. Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de amostra, a partir de curvas padrões.

3.2.4 Perfil das Poliaminas

As poliaminas foram extraídas de acordo com Lima et al. (2008) e analisadas como descrito por Dadáková et al. (2009). As amostras foram homogeneizadas em ácido perclórico (5% v/v gelado) por 30 min e centrifugadas (HeitichZentrifugen, MIKRO 220R) por 10 minutos a 4 °C. Adicionou-se ao sobrenadante 4,5 mol L⁻¹ de Na₂CO₃, contendo 18,5 mmol L⁻¹ de cloreto de dansyl em acetona (Sigma, 95 %). A reação foi realizada à 60° C e protegida da luz por 1 hora. Em seguida, foi adicionado 0,87 mol L⁻¹ de prolina (Sigma, 99 %) e as amostras foram mantidas em temperatura ambiente por 30 min. O tolueno (Sigma) foi usado para extrair PAs dansiladas. As amostras foram secas em nitrogênio gasoso e ressuspensas em 1,0 mL de acetonitrila para UPLC. Alíquotas de 20 µL foram injetadas em um sistema UPLC (Ultimate 3000 BioRS, Dionex-Thermo Fisher Scientific Inc., EUA), equipado com um detector de matriz de diodos (DAD-3000RS), ajustado em 225–300 nm. A taxa de fluxo foi de 0,7 mL / min, usando a coluna Ace 5C18 (Advanced Chromatography Technologies, UK) (5 cm, 25 cm × 4,6 mm). O gradiente cromatográfico realizado foi estabelecido usando acetonitrila 100% (solvente A) e acetonitrila 50% (solvente B): 0–4 min, 40% A + 60% B; 4-8 min, 60% A + 40% B; 8-12 min, 65% A + 35% B; 12–15 min, 85% A + 15% B; 15–21 min, 95% A + 5% B; 21–22 min, 85% A + 15% B; 22 min, 75% A + 25% B. Foram utilizados os padrões de aminas bioativas (Sigma-Aldrich®): espemina, espermidina, putrescina, serotonina, dopamina, tiramina para a construção das curvas padrões. Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de amostra.

3.2.5 Perfil da Vitamina C (Ácidos ascórbico e dehidroascórbico)

A determinação dos ácidos ascórbico e dehidroascórbico foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Pertuzatti et al. (2015), com adaptações. O extrato foi preparado a partir de 100 mg de amostra e 4 ml de solução extratora contendo ácido metafosfórico e ácido acético glacial (1:1). Os tubos foram agitados no vortex por 2 minutos e mantidos em banho ultrassônico por 30 minutos e, em seguida, centrifugados por 15 minutos a 3200 rpm a 4°C e o sobrenadante retirado e armazenado em recipiente âmbar. Aos tubos foram adicionados, novamente 4 mL da solução extratora, agitados em vórtex por 3 minutos e centrifugado por 15 minutos a 3200 rpm e 4°C. Após o sobrenadante ser retirado esse procedimento foi repetido, entretanto foram adicionados apenas 2 mL da solução extratora. Os sobrenadantes foram misturados e injetados (20 µL) em um sistema UPLC (Ultimate 3000 BioRS, Dionex-Thermo Fisher Scientific Inc., EUA), equipado com um detector de matriz de diodos (DAD-3000RS), ajustado em 225–300 nm. A taxa de fluxo foi de 0,8 mL / min, usando a coluna Ace 5C18 (Advanced Chromatography Technologies, UK) (5 cm, 25 cm x 4,6 mm). A fase móvel consistiu em ácido acético a 0,2 %. O tempo de corrida estabelecido foi de 15 minutos, com temperatura da coluna de 25 °C e o comprimento de onda de detecção de 248 nm para o ácido ascórbico e 240 nm para o ácido dehidroascórbico. Os resultados foram expressos em mg 100g⁻¹ de amostra.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Conteúdo de polifenóis

Foi observado aumento nos teores de polifenóis nos floretes de brócolis nas primeiras 24 horas de armazenamento (Tabelas 2 e 3). Estudos mostraram aumento crescente nos teores de polifenóis em produtos vegetais nos primeiros dias de armazenamento em baixas temperaturas sob condições de atmosfera modificada passiva (VALLEJO et al., 2002; PHONG et al., 2018; THOMAZ et al., 2018). Esse resultado indica biossíntese de polifenóis para a proteção das plantas nos primeiros dias após a colheita, desencadeada pelo estresse da colheita (STARZYNSKA; LEJA; MARECZEK et al., 2003).

Os compostos fenólicos são os principais compostos de resposta ao estresse oxidativo manifestado nos vegetais, incluindo o ácido gálico, que apresentou maiores concentrações nos floretes embalados com PEBD, PP e PVC ao 1º dia de armazenamento a 14 ± 2 °C (Tabela 2). Entretanto, houve diminuição nos teores de ácido gálico nos floretes embalados com filme PVC e controle (embalagem não selada) ao longo do período armazenado (Tabela 2).

Harbaum et al. (2008) verificaram que folhas de pak choi (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis* var. *Communis*) submetidas à aplicação de atmosfera modificada passiva, i.e., altas concentrações de CO₂, apresentaram redução nos teores de polifenóis ao longo do período de armazenamento. Esses resultados são semelhantes aos encontrados nesse estudo para os floretes embalados com PVC. Observando as condições de armazenamento a 22 ± 2 °C, brócolis embalados com PP e PVC mantiveram os teores iniciais de ácido gálico por 2 dias de armazenamento (Tabela 2). Outros estudos descrevem que os níveis de polifenóis não modificaram em brócolis, mantidos em embalagem aberta (VALLEJO et al., 2002).

Floretes embalados com PEBD contêm os maiores teores de ácido gálico no final do período de armazenamento a 22 ± 2 °C, comparados aos demais tratamentos (Tabela 2). O aumento nos teores de ácido gálico nos floretes embalados com PEBD pode estar relacionado a um mecanismo de resposta rápida ao estresse, induzido pelo aumento na taxa respiratória devido principalmente à temperatura de armazenamento.

Em ambas as temperaturas analisadas, todos os tratamentos, inclusive o controle (floretes em embalagem aberta), apresentaram aumento nos teores de ácido clorogênico ao longo do período de armazenamento (Tabela 2). Floretes armazenados a 14 ± 2 °C e embalados com filme PP apresentaram maiores teores desse ácido hidroxicinâmico ao 7º dia (0,4 mg 100⁻¹g), isto é, aumento de 53,84 % comparado aos teores iniciais (0,26 mg 100⁻¹g). Aumento expressivo também foi observado nos floretes embalagem não selada (controle) ao longo do armazenamento a 22 ± 2 °C, com aumento de 80,77 %, em comparação aos níveis iniciais (Tabela 2).

Starzynska; Leja; Mareczek (2003) também relatam aumento considerável nos teores de compostos fenólicos em brócolis armazenados por um curto período a 20°C com e sem aplicação de atmosfera modificada. Os autores justificam o

aumento em função da ação antioxidante das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD) em sequestrar os radicais livres.

Tabela 2. Ácido gálico ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) e ácido clorogênico ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) em inflorescência de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de $14 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e por 2 dias a temperatura de $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $85 \pm 5 \%$

		14 °C				22 °C		
		0	1	3	7	0	1	2
Ácido gálico	PEBD	0,91 aC	1,13 abA	0,88 aC	1,06 aB	0,91 aB	0,85 cC	1,15 aA
	PP	0,91 aC	1,09 bA	0,85 aD	0,97 bB	0,91 aA	0,81 cB	0,91 cA
	PVC	0,91 aB	1,18 aA	0,78 bC	-	0,91 aB	1,03 aA	0,92 cB
	CONTROLE	0,91 aB	0,97 cA	0,83 aC	-	0,91 aB	0,94 bB	1,02 bA
Ácido clorogênico	PEBD	0,26 aC	0,37 bcAB	0,39 bA	0,36 bB	0,26 aC	0,39 bB	0,44 bA
	PP	0,26 aB	0,40 aA	0,40 abA	0,40 aA	0,26 aB	0,39 bA	0,41 cA
	PVC	0,26 aC	0,35 cB	0,41 abA	-	0,26 aC	0,43 aA	0,39 cB
	CONTROLE	0,26 aC	0,38 abB	0,42 aA	-	0,26 aC	0,45 aB	0,47 aA

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Os flavonoides desempenham um papel importante como mecanismo de defesa das plantas por serem sinalizadores metabólicos em resposta ao estresse biótico e abiótico (JAHANGIR et al., 2009). As diferentes condições de armazenamento dos floretes de brócolis submetidos à atmosfera modificada afetaram a estabilidade dos flavonoides. Dentre eles, elevados teores de kaempferol foram encontrados e houve aumento nestes teores nos floretes embalados com filme PVC e controle, com maior concentração no 3º dia a $14 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ (1,64 e 1,81 $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$, respectivamente) (Tabela 3).

Floretes embalados com PEBD mantidos à $14 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ também apresentaram aumento dos teores de kaempferol, enquanto que floretes com filme PP não mostraram alterações durante o armazenamento (Tabela 3). Influenciado pela variação de temperatura de armazenamento, floretes mantidos a $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, com e sem aplicação da atmosfera modificada também apresentaram aumento nos teores de kaempferol nos dois dias de armazenamento (Tabela 3). Esse aumento representa cerca de 65,6 % comparado aos teores iniciais (1,25 $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$). O aumento nas concentrações de kaempferol pode ser uma indicação da biossíntese de polifenóis para proteção da planta contra estresse oxidativo principalmente nos

primeiros dias após a colheita (STARZYNSKA; LEJA; MARECZEK, 2003; FERNÁNDEZ-LEÓN et al., 2013).

Esses resultados evidenciam o efeito da embalagem no teor de flavonoides após a colheita de brócolis. Outros estudos mostram que a embalagem influencia na perda de peso das hortaliças como o brócolis, causando um impacto negativo no conteúdo de flavonols (Fernández-Léon et al., 2013), como o kaempferol. De acordo com Nath et al. (2011), a embalagem é importante para evitar a perda de umidade, assim como, na retenção de compostos bioativos em floretes de brócolis durante o armazenamento.

De forma geral, o uso de atmosfera modificada foi efetiva para os níveis obtidos de kaempferol dos floretes durante o armazenamento, tanto em condições de refrigeração quanto em ambiente. Estudos revelaram que o consumo de alimentos como o brócolis, que são ricos em kaempferol apresentam efeito protetor na saúde humana devido a sua gama de atividades farmacológicas, incluindo antioxidantes, anti-inflamatórios, antimicrobianos, anticâncer, atividades cardioprotetora, neuroprotetora, antidiabética, entre outras (VALLEJO et al., 2002; KHAJAL et al., 2013; MA et al., 2014).

Tanto o kaempferol, quanto quercetina, foram os compostos majoritários das amostras analisadas. Entretanto, foram detectados maiores níveis de kaempferol comparado a quercetina (Tabela 3). Pesquisas mostram que o kaempferol é o flavonoide de maior abundância, seguido da quercetina em brócolis (BAHORUN et al., 2004; GLISZCZYNSKA-SWIGLO et al., 2007), como foi observado no presente estudo.

Floretes armazenados a $14 \pm 2^\circ\text{C}$ mantiveram os teores de quercetina ao longo dos 7 dias de armazenamento (Tabela 3). Em contrapartida, os brócolis armazenados em condições de temperatura ambiente $22 \pm 2^\circ\text{C}$ apresentaram aumento nos teores de quercetina ao longo do armazenamento, com maiores concentrações nos floretes embalados com PEBD, PVC e em embalagem aberta (controle) no 2º dia (Tabela 3).

A quercetina pode inibir o processo de formação de radicais livres em três etapas diferentes, na iniciação (pela interação com íons superóxido), na formação de radicais hidroxil (quelante e estabilizador dos íons de ferro) e na peroxidação lipídica (por reagir com radicais peroxi de lipídeos (BEHLING et al., 2004). Dessa maneira, apresenta propriedades antioxidantes e pró-antioxidantes importantes na prevenção

de doenças cardiovasculares e inflamações crônicas (VALLEJO et al., 2002; MA et al., 2014). Derivados de quercetina, como a O-metilquercetina foram detectados nas inflorescências de brócolis em menores concentrações ($0,085 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) (Tabela 3). Houve um aumento nos teores em todos os tratamentos ao longo do armazenamento a $14 \pm 2^\circ\text{C}$, com destaque para as inflorescências embaladas com PVC e em embalagem aberta, as quais apresentaram maiores concentrações ao 3º dia ($0,165$ e $0,170 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, respectivamente) e PEBD ($0,125 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) ao 7º dia (Tabela 3).

Fatores como a maior permeabilidade do filme plástico a trocas gasosas (O_2 e CO_2) podem ter influenciado no aumento deste composto ao longo do armazenamento, visto que as inflorescências embaladas com filme PVC e controle (embalagem não selada) apresentaram mudança na coloração, tons verdes para tons amarelados, característico do processo de senescência (Figura 1) e degradação da clorofila. Concentrações mais elevadas de O-metilquercetina foram observadas em todos as inflorescências com e sem a aplicação da atmosfera modificada passiva a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ (Tabela 3).

As inflorescências embaladas com filme PVC se destacam, pois apresentam maiores concentrações deste composto no 2º dia de armazenamento ($0,210 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) (Tabela 3). Floretes armazenado nestas condições apresentaram rápida mudança na coloração, com inflorescências amareladas, características do processo de senescência (Figura 1).

Em inflorescências de brócolis cv. Rannapon também foi detectada luteolina. Floretes armazenados a $14 \pm 2^\circ\text{C}$ e embalados com os filmes PP, PVC e controle apresentaram diminuição nos teores de luteolina durante o período armazenado, com exceção do PEBD, na qual, os floretes mostraram aumento aos sete dias de armazenamento (Tabela 3). Analisando os floretes à $22 \pm 2^\circ\text{C}$, houve diminuição nos teores de luteolina em todos os tratamentos durante os 2 dias de armazenamento (Tabela 3).

Hortaliças com níveis consideráveis de luteolina têm sido utilizadas na dieta humana para tratamentos de doenças como hipertensão, distúrbios inflamatórios e o câncer, por exibir múltiplos efeitos biológicos, no combate aos radicais livres, agindo como pró-antioxidante (IMRAN et al., 2019).

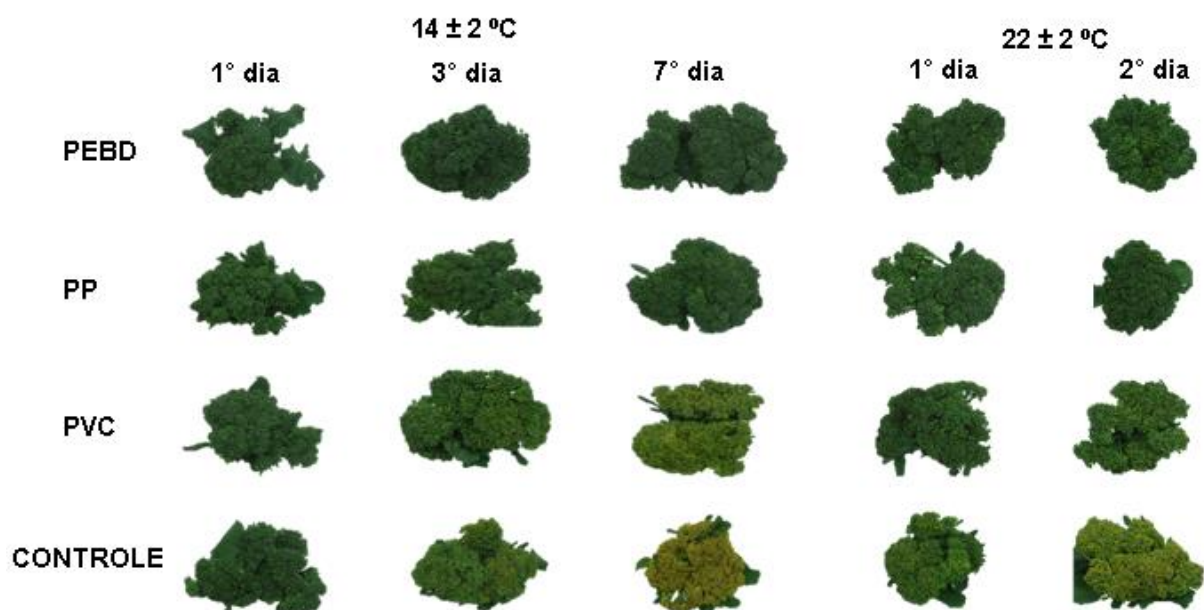


Figura 1. Floretes de brócolis cv. Rannapon submetidas a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias a 14 ± 2 °C e por 2 dias a 22 ± 2 °C com umidade relativa de 85 ± 5 %.

Floretes armazenados a 14 ± 2 °C com e sem a aplicação de atmosfera modificada apresentaram aumento nos teores de rutina até o 3° dia de armazenamento, com destaque para aqueles embalados em filme PP ($0,58 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) (Tabela 3). No 7° dia de armazenamento, as inflorescências embaladas com filme PEBD e PP apresentaram estatisticamente os mesmos teores iniciais (0 dia) encontrados no início do experimento ($0,30$ e $0,34 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) (tabela 3). Também foi observado comportamento semelhante a 22 ± 2 °C, aumento nos teores de rutina em todos os tratamentos ao longo do armazenamento (Tabela 3).

A rutina é encontrada em várias fontes alimentares, assim como no brócolis, a qual vem se destacando em função das suas diversas atividades farmacológicas, por apresentar alto poder antioxidante na eliminação dos radicais livres e ação terapêutica nos sintomas de insuficiência dos vasos linfáticos e venosos, associados a doenças hemorrágicas ou de hipertensão (BECHO et al., 2009). Alguns autores relatam que podem ocorrer variações nos níveis de flavonoides nos vegetais, que são muitas vezes atribuídas a diversos fatores, como genótipo, condições edafoclimáticas, estágio de desenvolvimento na etapa de colheita e manuseio pós-colheita (GLISZCZYNASKA-SWIGLO et al., 2007; PHOUNG et al., 2018; THOMAS et al., 2018).

Tabela 3. Rutina (mg 100 g⁻¹), quercetina (mg 100 g⁻¹), o-metilquercetina (mg 100 g⁻¹), kaempferol (mg 100 g⁻¹) e luteolina (mg 100 g⁻¹) em inflorescência de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 2 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5 %

		14 °C				22 °C		
		0	1	3	7	0	1	2
Rutina	PEBD	0,37 aC	0,51 aA	0,43 bcB	0,30 bC	0,37 aB	0,31 cC	0,51 aA
	PP	0,37 aC	0,47 aB	0,58 aA	0,34 aC	0,37 aB	0,48 abA	0,50 aA
	PVC	0,37 aC	0,48 aA	0,42 cB		0,37 aC	0,45 bA	0,40 bB
	CONTROLE	0,37 aB	0,34 bB	0,46 bA		0,37 aB	0,51 aA	0,51 aA
Quercetina	PEBD	0,53 aB	0,56 aA	0,34 cC	0,54 aAB	0,53 aC	0,58 bB	0,63 aA
	PP	0,53 aA	0,53 aA	0,41 bB	0,41 bB	0,53 aB	0,67 aA	0,54 bB
	PVC	0,53 aA	0,44 bC	0,49 aB		0,53 aB	0,54 cB	0,60 aA
	CONTROLE	0,53 aA	0,43 bC	0,50 aB		0,53 aB	0,50 dB	0,60 aA
O-metilquercetina	PEBD	0,085 aB	0,130 aA	0,130 bA	0,125 aA	0,085 aC	0,145 cB	0,190 bA
	PP	0,085 aC	0,130 aA	0,080 cC	0,100 bB	0,085 aC	0,185 aA	0,150 cB
	PVC	0,085 aC	0,135 aB	0,165 aA		0,085 aC	0,135 cB	0,210 aA
	CONTROLE	0,085 aC	0,110 bB	0,170 aA		0,085 aC	0,165 bB	0,190 bA
Kaempferol	PEBD	1,25 aC	1,48 abA	1,28 cC	1,38 aB	1,25 aC	1,62 cB	2,07 bA
	PP	1,25 aB	1,52 aA	1,13 dC	1,22 bB	1,25 aC	2,13 aA	1,72 Cb
	PVC	1,25 aC	1,43 bB	1,64 bA		1,25 aC	1,58 cB	2,31 aA
	CONTROLE	1,25 aB	1,13 cC	1,81 aA		1,25 aC	1,84 bB	2,18 abA
Luteolina	PEBD	0,09 aB	0,11 aA	0,04 cC	0,10 aA	0,09 aA	0,05 bB	0,05 bB
	PP	0,09 aA	0,04 dC	0,06 aB	0,04 bC	0,09 aA	0,05 bB	0,05 bB
	PVC	0,09 aA	0,06 cB	0,055 abB		0,09 aA	0,085 aA	0,06 aB
	CONTROLE	0,09 aA	0,07 bB	0,05 bC		0,09 aA	0,05 bB	0,045 bB

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

3.3.2 Conteúdo das poliaminas

Putrescina foi a poliamina mais abundante encontrada nos floretes (Tabela 4). Variações no metabolismo do brócolis relacionados a fatores como estresse causado por condições bióticas e abióticas podem levar a um acúmulo de putrescina no vegetal (GROPPIA; BENAVIDES, 2008). Floretes embalados com filme PEBD, PVC e controle apresentaram diminuição nos teores de putrescina ao longo do armazenamento a 14 e 22 ± 2°C (Tabela 4). Entretanto, maiores níveis dessa diamina foram detectados em brócolis embalados com PP em ambas as temperaturas estudadas, com destaque para o 7º dia (0,746 mg 100g⁻¹) a 14 ± 2°C e 2º dia (0,495 mg 100g⁻¹) a 22 ± 2°C (Tabela 4).

Brócolis embalados com filme PP, PVC e controle armazenados a 14 ± 2°C apresentaram aumento nos teores de espermidina durante o armazenamento por 7 dias (Tabela 4). Podemos destacar os floretes embalados com PEBD e PVC, que apresentaram maiores concentrações ao 1º e 3º dia (0,313 e 0,273 mg 100g⁻¹, respectivamente) de armazenamento, isto é, um aumento de 61,34 e 40,72 %, respectivamente em comparação aos níveis iniciais. Altas concentrações de espermidina também foram observadas nos floretes embalados com PEBD no 1º dia a 22 ± 2°C (0,279 mg 100g⁻¹) (Tabela 4).

Comportamento semelhante também foi observado com relação aos níveis de espermina. Houve aumento nos teores de espermina em brócolis com e sem a aplicação de atmosfera modificada passiva armazenados a 14 ± 2°C (Tabela 4). Esse comportamento também foi observado nos floretes submetidos a 22 ± 2°C (Tabela 4). Essas aminas compartilham um precursor comum, S-adenosilmetionina (SAM), com o etileno. A descarboxilação do SAM pela SAM-descarboxilase (SAMDC) resulta na formação de espermidina ou espermina. Em uma via paralela, o SAM pode ser convertido em ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) pela ACC sintase e depois em etileno, um regulador de crescimento vegetal associado diretamente ao estímulo da senescência em vegetais (KALAC, 2014). Dessa forma, brócolis embalados com os filmes PVC e controle foram os que apresentaram processo de deterioração mais rápido e/ou senescência em ambas as temperaturas de armazenamento, apresentando mais rápida mudança na coloração (verde intenso para amarelado) (Figura 1).

Tabela 4. Serotonina (mg 100 g⁻¹), putrecina (mg 100 g⁻¹), dopamina (mg 100 g⁻¹), espermidina (mg 100 g⁻¹) e espermina (mg 100 g⁻¹) em inflorescência de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 2 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5 %

		14 °C				22 °C		
		0	1	3	7	0	1	2
Serotonina	PEBD	0,11 aA	0,055 aB	0,004 cD	0,024 Bc	0,11 aA	0,051 aB	0,052 bB
	PP	0,11 aA	0,017 cD	0,022 bC	0,071 aB	0,11 aA	0,035 cC	0,088 aB
	PVC	0,11 aA	0,053 abB	0,039 aC		0,11 aA	0,047 bB	0,032 cC
	CONTROLE	0,11 aA	0,051 bB	0,001 dC		0,11 aA	0,046 bB	0,033 cC
Putrecina	PEBD	0,455 aA	0,442 aB	0,358 bD	0,415 bC	0,455 aA	0,440 bB	0,362 bC
	PP	0,455 aC	0,320 cD	0,512 aB	0,746 aA	0,455 aC	0,490 aA	0,495 aA
	PVC	0,455 aA	0,403 bB	0,334 cC		0,455 aA	0,271 cB	0,196 cC
	CONTROLE	0,455 aA	0,310 dB	0,251 dC		0,455 aA	0,205 dB	0,114 dC
Dopamina	PEBD	0,004 aD	0,021 aB	0,014 bC	0,022 aA	0,004 aC	0,030 cA	0,022 aB
	PP	0,004 aD	0,007 cC	0,015 aB	0,019 bA	0,004 aC	0,070 aA	0,019 bB
	PVC	0,004 aC	0,011 bB	0,013 cA		0,004 aC	0,039 bA	0,019 bB
	CONTROLE	0,004 aB	0,001 dC	0,009 dA		0,004 aC	0,014 dA	0,010 cB
Espemidina	PEBD	0,194 aC	0,313 aA	0,208 cB	0,186 bD	0,194 aC	0,279 aA	0,202 bB
	PP	0,194 aD	0,236 dB	0,239 bA	0,212 aC	0,194 aC	0,217 dA	0,209 aB
	PVC	0,194 aC	0,263 bB	0,273 aA		0,194 aB	0,244 bA	0,171 cC
	CONTROLE	0,194 aC	0,251 cA	0,206 cB		0,194 aB	0,222 cA	0,122 dC
Espermina	PEBD	0,012 aD	0,041 aA	0,029 bB	0,020 bC	0,012 aC	0,031 cA	0,019 cB
	PP	0,012 aD	0,031 bA	0,028 bB	0,022 aC	0,012 aC	0,022 dB	0,025 aA
	PVC	0,012 aC	0,029 cB	0,034 aA		0,012 aC	0,034 bA	0,022 bB
	CONTROLE	0,012 aC	0,028 cA	0,025 cB		0,012 aC	0,037 aA	0,021 bB

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05).

Em floretes embalados em PP a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ não houve a mudança na coloração, porém, a deterioração foi mais acentuada, com apodrecimento do talo devido ao acúmulo de umidade no interior da embalagem, com consequente presença de odor desagradável. Dessa forma, a grande quantidade de certas aminas biogênicas presente em vegetais, como espermidina e espermina, pode indicar se as condições foram favoráveis para a proliferação de microorganismos e produção de enzimas relacionando com os processos de decomposição ou deterioração do produto. Esses atributos (teor de aminas) podem servir como indicativo de qualidade, visto que, grandes quantidades desses compostos podem ser encontradas antes mesmo do produto apresentar sinais de deterioração ou ter suas propriedades sensoriais alteradas (CARDOZO et al., 2013).

Neste estudo, também foram detectados serotonina e dopamina. Poucos trabalhos evidenciam a presença dessas aminas biogênicas em vegetais (MORET et al, 2005). Nas plantas, a serotonina é sintetizada a partir de triptofano, no qual é primeiro convertido em triptamina pela triptofano descarboxilase, e então, a triptamina é convertida em serotonina pela ação da triptamina 5-hidroxilase (KANG et al., 2008). Está presente em todas as partes das plantas; entretanto, elevados níveis são encontrados em tecidos submetidos ao estresse (ERLAND et al., 2019). Neste estudo, os níveis de serotonina diminuíram ao longo do armazenamento a $14 \pm 2^\circ\text{C}$, assim como a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ (Tabela 4). Brócolis embalados com filme PEBD e controle apresentaram menores níveis no 3º dia de armazenamento a $14 \pm 2^\circ\text{C}$ (0,004 e 0,001 mg 100 g⁻¹, respectivamente) (Tabela 4). Comportamento semelhante foi observado nos floretes armazenados com filme PVC e controle a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ no qual, apresentaram os menores níveis de serotonina no 2º dia (0,032 e 0,033 mg 100g⁻¹, respectivamente) (Tabela 4). Neste caso, os brócolis apresentaram redução nos níveis de serotonina com e sem a aplicação da atmosfera modificada, mostrando que os tecidos vegetais do brócolis não se encontravam em condições elevadas de estresse apesar de serem submetidos a variações na temperatura de armazenamento. A serotonina também pode associar-se com os ácidos fenólicos como ácido hidroxicinâmico (ácido clorogênico), atuando como precursora de metabólitos vegetais relacionados ao estresse (ERLAND et al., 2019). A serotonina tem sido descrita como um potente

antioxidante, reduzindo o estresse oxidativo resultante das variações das condições ambientais, como as induzidas por variações de temperatura e armazenamento (AKULA, RAVISHANKAR, 2011).

Dopamina, um potente neurotransmissor, não foi ainda descrita em brócolis após a colheita. Neste estudo foram detectados teores consideráveis de dopamina (Tabela 4). Houve aumento nos teores dessa amina biogênica em todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento a $14 \pm 2^\circ\text{C}$. Resultado semelhante foi encontrado nos floretes com e sem a aplicação de atmosfera modificada passiva e armazenados em temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) (Tabela 4). Pesquisas realizadas em vegetais mostraram que a dopamina apresenta alto potencial antioxidante, semelhante ao potencial antioxidante do ácido ascórbico (Moret et al., 2005) e podem ser utilizadas para o desenvolvimento de medicamento e/ou formulações farmacêuticas pelo efeito anti-inflamatório, com capacidade de diminuir sintomas e auxiliar em tratamentos de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, como Parkinson (KALAC, 2014).

3.3.3 Vitamina C (Ácido ascórbico e dehidroascórbico)

Brócolis armazenados por 7 dias à $14 \pm 2^\circ\text{C}$ e embalados com filme PEBD e PP apresentaram reduções acentuadas nos níveis de ácido ascórbico, em torno de 59,27 e 53,66 %, respectivamente, comparado aos teores iniciais ($47,31 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) (Tabela 5). Em contrapartida, floretes embalados com filme PVC e em embalagem aberta (controle) apresentaram aumento nos níveis de ácido ascórbico ao longo do armazenamento a $14 \pm 2^\circ\text{C}$, com destaque para os floretes embalados com filme PVC no 3º dia ($59,53 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), isto é, um aumento de 25,83 % em relação aos níveis iniciais (0 dia) (Tabela 5). Estudos mostraram que em condições de atmosfera modificada com altas concentrações de CO_2 , há reduções nos níveis de ácido ascórbico ao longo do período de armazenamento devido a oxidação do ácido ascórbico pela ação da ascorbato oxidase (LEE; KADER, 2000).

Tabela 5. Ácido ascórbico (mg 100 g⁻¹) e dehidroascórbico (mg 100g⁻¹) em inflorescência de brócolis cv. Rannapon submetidos a atmosfera modificada passiva (polietileno de baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), filme policloreto de vinila (PVC), polietileno de baixa densidade (CONTROLE) armazenados por 7 dias à temperatura de 14 ± 2 °C e por 3 dias a temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 85 ± 5 %

		14 °C				22 °C		
		0	1	3	7	0	1	2
Ácido ascórbico	PEBD	47,31 aB	48,81 aA	40,77 cC	19,27 bD	47,31 aA	27,41 cB	26,74 bC
	PP	47,31 aA	42,97 bB	36,99 dC	21,92 aD	47,31 aA	42,95 aB	24,24 cC
	PVC	47,31 aB	32,62 cC	59,53 aA	-	47,31 aA	41,29 bB	30,80 aC
	CONTROLE	47,31 aB	28,17 dC	48,05 bA	-	47,31 aA	22,92 dB	17,45 dC
Ácido dehidroascórbico	PEBD	0,115 aA	0,120 bA	0,125 abA	0,100 aA	0,115 aB	0,130 aA	0,120 bAB
	PP	0,115 aAB	0,135 abA	0,105 bB	0,115 aAB	0,115 aB	0,080 cC	0,130 bA
	PVC	0,115 aB	0,130 abAB	0,140 aA	-	0,115 aA	0,085 cB	0,085 cB
	CONTROLE	0,115 aB	0,155 aA	0,120 abB	-	0,115 aB	0,105 bB	0,160 aA
Vitamina C	PEBD	47,43 aB	48,93 aA	40,89 cC	19,37 bD	47,43 aA	27,54 cB	26,86 bC
	PP	47,43 aA	43,10 bB	37,10 dC	22,03 aD	47,43 aA	43,03 aB	24,37 cC
	PVC	47,43 aB	32,75 cC	59,68 aA	-	47,43 aA	41,37 bB	30,88 aC
	CONTROLE	47,43 aB	28,32 dC	48,17 bA	-	47,43 aA	23,03 dB	17,61 dC

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (p≤0,05).

Embalagens como PEBD e PP apresentam como características baixa permeabilidade aos gases (CO_2 e O_2), favorecendo rapidamente a elevação nos níveis de CO_2 e diminuição nos níveis de O_2 no seu interior, o que pode justificar as reduções nos níveis de ácido ascórbico. Com o aumento da temperatura de armazenamento para $22 \pm 2^\circ\text{C}$, houve reduções significativas nos teores de ácido ascórbico em todos os tratamentos (Tabela 5).

Podemos destacar os floretes embalados com filme PVC, os quais apresentaram perdas menos acentuadas de ácido ascórbico comparado aos demais tratamentos por 2 dias (Tabela 5). As reduções nos níveis de ácido ascórbico em floretes embalados com PVC atingem 34,9 % durante o período, enquanto que, em floretes em embalagem aberta (controle), houve redução de 63,11 %, comparado aos níveis iniciais (0dia) (Tabela 5). A retenção nos níveis de ácido ascórbico foi maior em floretes de brócolis submetidos a atmosfera modificada passiva (embalagem selada) em comparação a embalagem não selada (controle).

Brócolis embalados com PEBD, PP e controle e armazenados a $14 \pm 2^\circ\text{C}$ não apresentaram variações significativas de ácido dehidroascórbico durante o armazenamento por 7 dias (Tabela 5). Entretanto, floretes embalados com filme PVC apresentaram aumento nos teores ao longo dos 3 dias de armazenamento (Tabela 5). Em contrapartida, floretes embalados com o filme PVC e armazenados a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ apresentaram reduções significativas nos níveis ao longo do armazenamento por 2 dias, representando um percentual de 26,08 % comparado aos níveis iniciais de ácido dehidroascórbico (0 dia). Resultado oposto foi observado nos floretes embalados com filme PP e controle (embalagem não selada), isto é, houve aumento nos teores ao longo do armazenamento, com destaque para os brócolis em embalagem não selada que mostraram maiores concentrações de ácido dehidroascórbico no 2º dia ($0,160 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) (Tabela 5).

O ácido dehidroascórbico, juntamente com ácido ascórbico, funciona como antioxidante, protegendo as células contra as espécies reativas de oxigênio (EROS). A atmosfera modificada passiva em brócolis resultou na manutenção dos teores de vitamina C, assim como de ácido ascórbico, retenção de clorofila e umidade em comparação com brócolis armazenados em embalagens não seladas, em contato com o ar atmosférico. O conteúdo de vitamina C é influenciado pelos altos níveis de

CO₂, em que os teores de ácido ascórbico são reduzidos mais facilmente comparado aos níveis de dehidroascórbico (AGAR et al., 1997).

3.4 CONCLUSÃO

A aplicação de filmes plásticos para conservação e manutenção da qualidade de brócolis cv. Rannapon foi efetiva na preservação e na elevação dos teores de polifenóis nas primeiras 24 horas de armazenamento, e também na elevação dos teores de compostos importantes como kaempferol e rutina ao longo do período armazenado, tanto em condições de refrigeração quanto em ambiente. As poliaminas, espermidina e espermina apresentaram aumentos nos níveis com a aplicação da atmosfera modificada, que podem estar ligados a produção de enzimas degradativas, relacionando com a deterioração do produto, portanto, um indicativo de qualidade. Dopamina e serotonina com concentrações expressivas nos floretes submetidos a atmosfera modificada em ambas as temperaturas armazenadas. A atmosfera modificada passiva em brócolis não resultou na manutenção dos teores de ácido ascórbico (vitamina C) em comparação com brócolis armazenados em embalagens não seladas, em contato com o ar atmosférico, em brócolis submetidos a 22 ± 2 °C. A atmosfera modificada aplicada em brócolis manteve os níveis satisfatórios de antioxidantes que garantem benefícios a saúde, principalmente como preventivos para o tratamento de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGAR, I.T. et al. Effect of high CO₂ and controlled atmosphere (CA) on the ascorbic and dehydroascorbic acid content of some berry fruits. **Postharvest Biology and Technology**. v.11, p. 47–55, 1997.

AKULA, R.; Ravishankar, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p.1720-1731, 2011.

ANSORENA, M. R. et al. Impact of edible coatings and mild heat shocks on quality of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L.) during refrigerated storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.59, p.53–63, 2011.

- BAHORUN, T. et al. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.84, n.12, p.1553–1561, 2004.
- BECHO, J. R. M. et al. Rutin – structure, metabolism and pharmacological potency. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v.1. n.1, p.21 – 25, 2009.
- BREGOLI, A. M. et al. Postharvest 1-methylcyclopropene application in ripening control of 'Stark Red Gold' nectarines: Temperature-dependent effects on ethylene production and biosynthetic gene expression, fruit quality, and polyamine levels. **Postharvest Biology and Technology**, v.37, p.111–121, 2005.
- CARDOSO, M. et al. Aminas Biogênicas: Um Problema de Saúde Pública. **Revista Virtual de Química**. v.5, n. 2, p. 149-168, 2013.
- CARTEA, M. E. et al. Phenolic Compounds in Brassica Vegetables: review. **Molecules**, v.16, p. 251-280, 2011.
- CUNHA, F. L. et al. Determination of biogenic amines in different types of cheese by highperformance liquid chromatography. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n1, p.69-75, 2012.
- DADÁKOVÁ, E., NOVA, T.P., KALAC, P. Content of biogenic amines and polyamines in some species of European wild-growing edible mushrooms. **European Food Res. and Technology** v.230, p. 163–171, 2009.
- ERLAND, L. A. E. et al. A new balancing act: The many roles of melatonin and serotonin in plant growth and development. **Plant Signaling & Behavior**, v. 10, n.11, p. 1096469, 2015.
- ESCARPA, A., GONZALEZ, M.C. Fast separation of (poly) phenolic compounds from apples and pears by high-performance liquid chromatography with diode-array detection. **Journal of Chromatography A**, v.830, p.301–309, 1999.
- FERNÁNDEZ-LEÓN, M.F. et al. Altered commercial controlled atmosphere storage conditions for Parthenon broccoli plants (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) influence on the outer quality parameters and on the health-promoting compounds. **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, p. 665-672, 2013.
- GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, A. et al. Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. **Food Additives and Contaminants**, v.23, n. 11, p. 1088–1098, 2007.
- GROPPA, M. D.; BENAVIDES, M. P. et al. Polyamines and abiotic stress: recent advances. **Amino Acids**. v.34, p. 35–45, 2008.
- HARBAUM, B et al. Impact of fermentation on phenolic compounds in leaves of pak choy (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*) and Chinese leaf mustard (*Brassica juncea* Coss). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.148–157, 2008.

HARBAUM, B. et al. Identification of flavonoids and hydroxycinnamic acids in pak choi varieties (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*) by HPLC–ESI–MSn and NMR and their quantification by HPLC–DAD. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.8251–8260, 2007.

IMRAN, M. et al. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 112, p. 108612, 2019.

JAHANGIR, M. et al. Healthy and unhealthy plants: The effect of stress on the metabolism of Brassicaceae. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n.1, p.23–33, 2009.

JIN, P. et al. Effect of light on quality and bioactive compounds in postharvest broccoli florets. **Food Chemistry**, v.172, p. 705–709, 2015.

KADER, A. A.; CANTWELL, M. Produce Quality Rating Scales and Color Charts. Postharvest Technology Research and Information Center, UC Davis, **Postharvest Horticultural Series n. 23-CD room**, 2004.

KALAIČ, P. Health effects and occurrence of dietary polyamines: A review for the period 2005-mid 2013. **Food Chemistry**, v.161, p. 27–39, 2014.
Kale, and Chinese Broccoli. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 57, p. 7401–7408, 2009.

KANG, K. et al. Enzymatic features of serotonin biosynthetic enzymes and serotonin biosynthesis in plants. **Plant Signaling and Behavior**, v.3, p.389–390, 2008.

KHALAJ, L., et al. Assessing competence of broccoli consumption on inflammatory and antioxidant pathways in restraint-induced models: Estimation in rat hippocampus and prefrontal cortex. **BioMed Research International**, p.1–13, 2013.

KOBORI, C. N. et al. Behavior of Flavonols and Carotenoids of Minimally Processed Kale Leaves during Storage in Passive Modified Atmosphere Packaging. **Journal of Food Science**, v.76, n.2, p.31–37, 2011.

LEE, S.K; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v.20, p. 207–220, 2000.

LIMA, G. P. P. et al. Comparison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and organic methods. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, n.10, 1838–1843, 2008.

LIMA, V. L. A. G. et al. Total phenolic and carotenoid content in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v.90, p.565–568, 2005.

MA, G. et al. Effect of red and blue LED light irradiation on ascorbate content and expression of genes related to ascorbate metabolism in postharvest broccoli. **Postharvest Biology and Technology**, n.94, p.97–103, 2014.

MAZZA, C. A. et al. The effects of solar ultraviolet-B radiation on the growth and yield of barley are accompanied by increased DNA damage and antioxidant responses. **Plant, Cell and Environment**, v. 22, p. 61–70, 2000.

MORET, S. et al. A survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. **Food Chemistry**, v. 89, n. 3, p.355–361, 2005.

NATH, A. et al. Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. **Food Chemistry**, v.127, p.1510–1514, 2011.

OLIVEIRA, C. P. et al. Nitrate, nitrite and volatile nitrosoamines in whey-containing food products. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 43, p. 967–969, 1995.

PALMA, F. et al. Putrescine treatment increases the antioxidant response and carbohydrate content in zucchini fruit stored at low temperature. **Postharvest Biology and Technology**. v.118, p.68–70, 2016.

PERTUZATTI, P. B. et al. Carotenoids, tocopherols and ascorbic acid content in yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) grown under different cultivation systems. **LWT - Food Science and Technology** n.64, p. 259 -263, 2015.

PHUONG, N. T. H. et al. Effect of Packaging Films on the Quality of Broccoli. **Faculty of Agriculture Kyushu University**, n. 63, v.2, p.339-346, 2018.

RAMAKRISHNA, A., RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signal Behav.** v.6, 1720p.,2014.
responses. **Plant, Cell & Environment**, v.22, n.1, 61–70, 1999.

STARZYŃSKA, A., LEJA, M., MARECZEK, A., Physiological changes in the antioxidant system of broccoli flower buds senescing during short-term storage, related to temperature and packaging. **Plant Science**, v.165, n.6, p.1387–1395, 2003.

THOMAZ, M. et al. Characterization of industrial broccoli discards (*Brassica oleracea* var.italica) for their glucosinolate, polyphenol and flavonoid contents using UPLC MS/MS and spectrophotometric methods. **Food Chemistry** v. 245, p.1204–1211, 2018.

USFDA (US Food and Drug Administration), 2001. Scombrototoxin (histamine) formation. In Fish and fishery products hazards and controls guide (third ed., pp. 73–93). Washington D.C.: Department of Human Health Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood.

VALLEJO, F. et al. Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.82, p.1293–1297, 2002.

WILLINAS, D. J. et al. Epithiospecifier protein activity in broccoli: The link between terminal alkenyl glucosinolates and sulphoraphane nitrile. **Phytochemistry**, v. 69, p. 2765–2773, 2008.

XU, F. et al. Reducing yellowing and enhancing antioxidant capacity of broccoli in storage by sucrose treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v. 112, p. 39–45, 2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo evidenciou que aplicação da atmosfera hiperbárica em brócolis cv. Rannapon interferiu nas características físicas e bioquímicas, refletindo redução da vida útil do brócolis (menor que dois dias) e a qualidade (perda de cor, crocância e textura) entretanto, induziu maiores teores de compostos bioativos. Devido amarelecimento antecipado, houve produção de resíduos constituídos por substâncias bioativas que pode ser utilizadas e/ou reaproveitadas pela indústria farmacêutica na produção de suplementos. Por ser uma tecnologia promissora, há necessidade se desenvolver mais estudos para elucidação de pontos importantes com relação a parâmetros como pressão aplicada e tempo de exposição, conseqüentemente, extensão da vida útil e da qualidade commercial de produtos vegetais, assim como no brócolis.

O uso da atmosfera modificada passiva e as variações de temperatura de armazenamento mostraram efeitos positivos na preservação da qualidade comercial e funcional, com a manutenção e indução de síntese de metabólitos com propriedades antioxidantes, como polifenóis, ácido ascórbico e aminas biogênicas, os quais são primordiais para a saúde e bem-estar humano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BABA, T.; IKEDA, F. Use of high-pressure treatment to prolong the postharvest life of mume fruit (*Prunus mume*). **Acta Horticulturae**, v. 628, p. 373-377, 2003.

BREGOLI, A. M. et al. Postharvest 1-methylcyclopropene application in ripening control of ' Stark Red Gold ' nectarines : Temperature-dependent effects on ethylene production and biosynthetic gene expression, fruit quality, and polyamine levels. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, p. 111–121, 2005.

CARTEA, M. E. et al. Phenolic Compounds in Brassica Vegetables: review. **Molecules**, v.16, p. 251-280, 2011.

CASTELLANOS, D. A. et al. Modelling the evolution of O₂ and CO₂ concentrations in MAP of a fresh product: Application to tomato. **Journal of Food Engineering**, v. 168, p. 84-95, 2016.

DIXON, G. R.; DICKSON, M. H. **Vegetable brassicas and related crucifers**. Crop Production Science in Horticulture, Wallingford: CABI – 2006, series 14, 416 p.

DOMINGUEZ, I. et al. Influence of modified atmosphere and ethylene levels on quality attributes of fresh tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Food Chemistry**, v. 209, p. 211-219, 2016.

DOMINGUEZ-PERLES, R., et al. Novel varieties of broccoli for optimal bioactive components under saline stress. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p.1638–1647, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Banco de dados**. Roma: FAO, 2015.

GONZALEZ-AGUILAR, G.A. et al. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 10, p. 475-482, 2010.

GOYETTE, B. et al. Conceptualization, design and evaluation of a hyperbaric respirometer. **Journal of Food Engineering**, v.105, n. 2, 283-288, 2011.

GOYETTE, B. et al. Effect of hyperbaric treatments on the quality attributes of tomato. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 92, n. 3, p. 541-551, 2012a.

GOYETTE, B. et al. Hyperbaric treatment on respiration rate and respiratory quotient of tomato. **Food Bioprocess Technology**, v. 5, p. 3066-3074, 2012b.

INESTROZA-LIZARDO, C. et al. Hyperbaric pressure at room temperature increases post-harvest preservation of the tomato 'Debora'. **Scientia Horticulturae**. v. 228, p. 103-112, 2018.

JIA, C-G. et al. Effect of modified atmosphere packaging on visual quality and glucosinolates of broccoli florets. **Food Chemistry**, v.114, p. 28–37, 2009.

KADER, A.A. **Postharvest biology and technology: an Overview**. In: KADER, A.A. Postharvest technology of horticultural crops. Davis: University of California, p.43-54, 2002.

KAPUSTA-DUCH, J. et al. Impact of different packaging systems on selected antioxidant properties of frozen-stored broccoli. **Ecology Chemistry Engenieer**. Heruntergeladen, v. 26, n. 2, p. 383-396, 2019.

KHALAJ, L., et al. Assessing competence of broccoli consumption on inflammatory and antioxidant pathways in restraint-induced models: Estimation in rat hippocampus and prefrontal cortex. **BioMed Research International**, p.1–13, 2013.

KRUMBEIN, et al. Changes in quercetin and kaempferol concentrations during broccoli head ontogeny in three broccoli cultivars. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, Grossbeeren Germany, v. 81, p.136 – 139, 2007.

LEMOINE, M.L. et al. Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). **Journal Science Food Agriculture**, v. 87, p.1132 - 1139, 2007.

LIPLAP, P. et al. Effect of hyperbaric pressure and temperature on respiration rates and quality attributes of tomato. **Postharvest Biology and Technology**, v.86, p.240-248, 2013a.

LIPLAP, P. et al. Effect of hyperbaric treatment on respiration rates and quality attributes of sweet corn. **International Journal of Postharvest Technology and Innovation**, v.3, n.3, p.257-271, 2013c.

LIPLAP, P. et al. **Hyperbaric treatment vs respiration rates and quality attributes of avocado**. In: ANNUAL INTERNATIONAL MEETING SPONSORED BY ASABE GAULT HOUSE, 2011. Proceedings. Louisville: American Society of Agricultural and Biological Engineers, p.11-274, 2011.

LIPLAP, P. et al. Tomato shelf-life extension at room temperature by hyperbaric pressure treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v.86, p.45-52, 2013b.

MA, G. et al. Effect of 1-methylcyclopropene on expression of genes for ethylene biosynthesis enzymes and ethylene receptors in post-harvest broccoli. **Plant Growth Regulation**, v. 57, p. 223–232, 2009.

MAZUREK, A., JAMROZ, J. Precision of dehydroascorbic acid quantitation with the use of the subtraction method – Validation of HPLC–DAD method for determination of total vitamin C in food. **Food Chemistry**, v. 173, p. 543–550, 2015.

MORET, S. et al. A survey on free biogenic amine content of fresh and
NATH, A. et al. Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. **Food Chemistry**, v.127, p.1510–1514, 2011.

PASCOAL, A. C. R. F. et al. Antiproliferative activity and induction of apoptosis in PC-3 cells by the chalcone cardamonin from *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) in a bioactivity-guided study. **Molecules**, v.19, p.1843–1855, 2014.

PLANTAÇÕES DE EMPREGO. **Anuário Brasileiro de Horti & Fruti**. 2019. Kist, B.B. et al. Horticultura – Brasil. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019, 96p.

PODSEDEK, A. Natural antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 1–11, 2007.

SANDHYA, B. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 381-392, 2010.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4º edição. Campinas, São Paulo, 2011.

THOMAS, M. et al. Characterization of industrial broccoli discards (*Brassica oleracea* var. *italica*) for their glucosinolate, polyphenol and flavonoid contents using UPLC MS/MS and spectrophotometric methods. **Food Chemistry**, v.245, p. 1204–1211, 2018.

THOMPSON, A. K. **Hyperbaric Storage**. In: *Fruit and Vegetables Storage – Hypobaric, Hyperbaric and Controlled Atmosphere – Springer Briefs in Food, Health and Nutrition*, p. 93-109, 2016.

TOSUN, B.N., YÜCECAN, S. Influence of commercial freezing and storage on vitamin C content of some vegetables. **Internacional Journal Food Science Technology**, v. 43, p. 316–321, 2008.

VALLEJO, F. et al. Health-promoting compounds in broccoli as influenced by refrigerated transport and retail sale period. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 51, p. 3029–3034, 2003.

VALLEJO, F. et al. Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.82, p.1293–1297, 2002.

VICENTE, A.R. et al. Influence of selfproduced CO₂ on postharvest life of heat treated strawberries. **Postharvest Biology Technology**, v. 27, p. 265–275, 2003.

VIGNEAULT C. et al. Engineering aspects of physical treatments to increase fruit and vegetable phytochemical content. **Canadian Journal of Plant Science**, v.22, p. 1-25, 2012.

VINA, S.Z.; CHAVES, A.R. Effect of heat treatment and refrigerated storage on antioxidant properties of pre-cut celery (*Apium graveolens* L.). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, n.1, p. 44-51, 2008.