



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



MARLA SÍLVIA DIAMANTE

**BENEFÍCIOS DO PROCESSAMENTO TÉRMICO NA COMPOSIÇÃO
FITOQUÍMICA DE COUVES-FLORES COLORIDAS**

Botucatu

2019

MARLA SÍLVIA DIAMANTE

**BENEFÍCIOS DO PROCESSAMENTO TÉRMICO NA COMPOSIÇÃO
FITOQUÍMICA DE COUVES-FLORES COLORIDAS**

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

Orientadora: Prof^a Dr^a Giuseppina P. P. Lima
Coorientador: Prof. Dr. Igor Otávio Minatel

Botucatu

2019

D537b

Diamante, Marla Sílvia

Benefícios do processamento térmico na composição
fitoquímica de couves-flores coloridas / Marla Sílvia Diamante.

-- Botucatu, 2019

99 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu

Orientadora: Giuseppina Pace Pereira Lima

Coorientador: Igor Otávio Minatel

1. Fisiologia pós-colheita. 2. Compostos bioativos. 3.
Hortaliças. 4. Processamento térmico. I. Título.


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

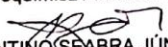
Título: "BENEFÍCIOS DO PROCESSAMENTO TÉRMICO NA COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DE COUVES-FLORES COLORIDAS"

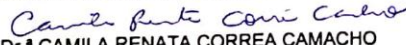
AUTORA: MARLA SILVIA DIAMANTE


ORIENTADORA: GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA

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. SANTINO SEABRA JÚNIOR
Agronomia / Universidade do Estado do Mato Grosso


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


Prof.ª Dr.ª MÔNICA BARTIRA DA SILVA
Agronomia / Universidade Estadual de Mato Grosso


Prof.ª Dr.ª ANA PAULA PRECZENHAK
Pós-Doutoranda - Ciências Biológicas / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz

Botucatu, 20 de novembro de 2019.

A minha mãe, Rosângela, pelos ensinamentos, cuidados e carinho.
Em memória de meu pai, Maurílio, por sua honestidade,
sabedoria e força.
A eles todo meu amor e admiração, **Dedico.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sua infinita bondade.

À Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Horticultura), pela oportunidade.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – CAPES – Código de financiamento 001.

À querida Prof.^a Dr.^a Giuseppina Pace Pereira Lima, pela orientação, dedicação à pesquisa, humildade e principalmente por sua paciência, toda minha gratidão e admiração.

Ao Prof. Dr. Igor Otávio Minatel pela dedicação a este trabalho, auxílio, ensinamentos e amizade.

Ao colega Luís Felipe Baldini e família, bem como aos funcionários do Sítio Janeiro, responsáveis pela produção das couves-flores.

À Prof.^a Dr.^a Camila Renata Correa (UNIPEX/Unesp – Botucatu), ao Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino (ESALQ/USP- Piracicaba) e à querida Carla (Laboratório de Nutrição – Unesp/Botucatu), por permitirem o uso dos respectivos laboratórios, pelo auxílio e parceria.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Química e Bioquímica do IBB (UNESP), por todo auxílio dedicado.

Aos amigos do LQBV (IBB/UNESP), agradeço por toda ajuda e por me suportarem por todos estes anos! Obrigada por tudo, pessoal!

Mais uma vez aos meus pais, Rosângela e Maurílio (em memória), por tudo que fizeram por mim, não deixando que nada me faltasse.

À minha família, pelo exemplo de simplicidade e união.

À Marília Caixeta, por compartilhar a casa e 24 horas do seu dia comigo! Obrigada por tudo!

Aos meus amigos, todos, sem exceção! Não deixarei escrito aqui nomes, para não cometer o erro de esquecer de alguém. Obrigada pelas risadas, apoio e companhia!

RESUMO

O cozimento além de facilitar a digestibilidade e a palatabilidade dos vegetais, pode alterar a biodisponibilidade de micronutrientes. As couves-flores são normalmente consumidas após processamento térmico e apresentam níveis elevados de compostos bioativos que influenciam na saúde humana, especialmente na prevenção as doenças crônicas. Estes compostos possuem atividade antioxidante que confere proteção e auxilia o organismo humano a eliminar os radicais livres, componentes centrais das regulações metabólicas induzidas por doenças crônicas. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tempo e tipo de cozimento (fervura, vapor e micro-ondas) sobre as características bioquímicas de quatro genótipos de couve-flor colorida ('Verde di Macerata', 'Cheddar', 'Forata' e 'Graffiti'). Em um primeiro momento, foi determinado o perfil físico-químico das couves-flores coloridas. Os floretes foram submetidos aos tratamentos térmicos por 5 e 10 min e após foram realizadas as análises físico-químicas. O processamento em ebulição resultou em perdas significativas de sólidos solúveis totais e carboidratos solúveis totais, diferentemente dos métodos onde foram utilizadas menores quantidades de água para o processamento das inflorescências (i.e., micro-ondas e vapor). Os métodos a vapor e micro-ondas resultaram em valores superiores de sólidos solúveis, independente do genótipo analisado. O cozimento dos floretes em ebulição reduziu significativamente os teores da maioria dos compostos químicos analisados (acidez titulável, sólidos solúveis e carboidratos solúveis totais). No segundo experimento foi avaliado, por cromatografia líquida, o conteúdo dos aminoácidos triptofano e 5-hidroxitriptofano e de aminas biogênicas, para cálculo posterior do *Chemical Quality Index* – CQI. Os resultados demonstraram que o processamento térmico e os tempos de cocção influenciaram no conteúdo das aminas biogênicas e dos aminoácidos estudados. A coloração dos vegetais também afeta o conteúdo destas substâncias, pois foram verificados níveis menores dos aminoácidos e das aminas biogênicas na couve-flor roxa, quando comparada as demais. A couve-flor branca apresentou os maiores níveis de histamina, substância conhecida por seu efeito alergênico. O cozimento afetou positivamente no CQI das couves-flores, com redução no índice quando comparado as inflorescências cruas. O conteúdo de carotenoides, provitaminicos A (pVACs), equivalente de atividade de retinol (RAE) e α e γ -tocoferol

em couves-flores coloridas, bem como o efeito do cozimento na coloração das inflorescências coloridas também foram avaliados em diferentes tempos de preparo (5, 10 e 20 min), em um terceiro experimento. Nosso estudo mostrou que o processamento térmico promoveu aumento nos teores dos compostos antioxidantes analisados (carotenoides e pVACs), independente do genótipo, quando comparados com o material cru e, alterou níveis de tocoferol e os atributos de cor da hortaliça em relação ao material cru. Os maiores teores de zeaxantina e luteína foram verificados na 'Verde di Macerata'. A couve-flor 'Cheddar' apresentou os maiores conteúdos de todos os carotenoides, e quando cozidas em vapor por 20 minutos observou-se o maior teor de pVACs e RAE. Incrementos no conteúdo de pVACs, RAE e Σ carotenoides foram observados em 'Forata' e 'Graffiti'. Independente do genótipo analisado, o cozimento por 20 minutos, seja em ebulição, ou em vapor, induziu aumento dos níveis de α e γ - tocoferol nas inflorescências. O conteúdo de clorofila, em 'Verde di macerata' aumentou em função do cozimento. O processamento térmico não aumentou os níveis de antocianinas na 'Graffiti', com relação ao material cru. 'Verde di Macerata' e Cheddar', apesar de pouco consumidas, podem ser boas fontes de carotenoides, provitaminicos A e tocoferol. Os cozimentos não afetaram negativamente o aspecto visual das couves-flores.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *botrytis*. Cozimento. Aminas biogênicas. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

The cooking process, besides facilitating the digestibility and palatability of vegetables, can alter the bioavailability of micronutrients. The cauliflowers are usually consumed after a thermal process and present high levels of bioactive compounds that positively affect the human health, particularly in chronic disease prevention. The compounds possess antioxidant activity that provides protection and assists the human organism in eliminating free radicals, central compounds in metabolic regulations induced by chronic diseases. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of time and cooking procedure (boiling, steaming and microwaving) over the biochemical characteristics of four genotypes of colored cauliflowers ('Verde di Macerata', 'Cheddar', 'Forata' e 'Gradffiti'). Firstly, the physicochemical profile of the colored cauliflowers was determined. The cauliflowers were subjected to the thermal processes for 5 and 10 minutes and physicochemical analysis were performed. The boiling process resulted in significant losses of total soluble solids and total soluble carbohydrates, unlike the methods where smaller amounts of water were used for processing the inflorescences (i.e., microwaving and steaming). The steaming and microwaving methods resulted in superior values of soluble solids, independently of the analyzed genotype. The cooking of the inflorescences by boiling reduced significantly the contents of the majority of the analyzed chemical compounds (titratable acidity, soluble solids and total soluble carbohydrates). In the second experiment, done by liquid-chromatography, the contents of the amino acids tryptophan and 5-hydroxytryptophan and the biogenic amines, for later evaluation of the Chemical Quality Index – CQI. The results showed that the thermal processing and the cooking times affected the contents of the studied biogenic amines and the amino acids. The coloring of the vegetables also has an effect in the content of these substances, because lower levels of amino acids and biogenic amines were found in the purple cauliflowers, when compared to the others. The white cauliflower, presented the highest levels of histamine, substance known for its allergenic effect. The cooking procedure positively affected the CQI of the cauliflowers, with the reduction of the index when compared to the raw inflorescences. The contents of carotenoids, provitamin-A (pVACs), equivalente de atividade de retinol (RAE), α and γ -tocoferols of the colored cauliflowers, as well as the effect of the cooking procedure in the coloring of the

different inflorescences were evaluated under different preparation times (5, 10 and 20 minutes). Our study showed that thermal processing promoted an increase in the levels of the antioxidant compounds analyzed (carotenoids and pVACs), regardless of genotype, when compared with the raw material and altered tocopherol levels and the color attributes of the vegetables in relation to the raw material. The highest levels of zeaxanthin and lutein were found in Verde di Macerata. Cauliflower 'Cheddar' had the highest contents of all carotenoids, and when steamed for 20 minutes the highest pVACs and RAE content was observed. Increases in pVACs, RAE and 'carotenoids' content were observed in 'Forata' and 'Graffiti'. Regardless of the genotype analyzed, boiling for 20 minutes, either boiling or steaming, induced an increase in α and γ -tocopherol levels in inflorescences. Chlorophyll content in 'Verde di macerata' increased as a function of cooking. Thermal processing did not increase anthocyanin levels in Graffiti relative to raw material. 'Verde di Macerata' and Cheddar ', although little consumed, can be good sources of carotenoids, provitamins A and tocopherol. The cooking did not negatively affect the visual appearance of cauliflowers.

Keywords: *Brassica oleracea var. botrytis*. Cooking. Biogenic amines. Antioxidant Activity.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	15
CAPÍTULO 1 - Perfil físico-químico de couves-flores coloridas antes e após processamento térmico	21
RESUMO	21
ABSTRACT	22
1.1 INTRODUÇÃO	23
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	25
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
1.4 CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO 2 – Bioactive amines screening in four genotypes of termally processed cauliflower	37
ABSTRACT	37
2.1 INTRODUCTION	38
2.2 MATERIALS AND METHODS	40
2.2.1 Plant Material	40
2.2.2 Biogenic Amine Analysis by HPLC	41
2.2.3 Chemical Quality Index - CQI	42
2.2.4 Statistical Analysis	42
2.3 RESULTS AND DISCUSSION	42
2.4 CONCLUSIONS	55
REFERENCES	56
CAPÍTULO 3 – Efeito do cozimento doméstico no perfil de carotenoides em couves-flores coloridas	60
RESUMO	60
ABSTRACT	61
3.1 INTRODUÇÃO	62
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	64
3.2.1 Material Vegetal	64
3.2.2 Processamento térmico	66
3.2.3 Cor	66
3.2.4 Identificação e Quantificação dos carotenoides e tocoferóis via CLAE	66

3.2.4.1	Processo de extração saponificada	66
3.2.4.2	Análise de carotenoides e tocoferóis por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	67
3.2.5	Determinação da Equivalente de Atividade de Retinol (RAE)	67
3.2.6	Determinação das Clorofilas totais	68
3.2.7	Extração e análise das Antocianinas Totais na couve-flor 'Graffiti'	68
3.2.8	Determinação da capacidade antioxidante por ABTS.....	69
3.2.9	Análise Estatística.....	69
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
3.3.1	Impacto dos genótipos e do processamento térmico no teor de carotenoides	69
3.3.2	Impacto dos genótipos e do processamento térmico no teor de tocoferol	78
3.3.3	Impacto de genótipos e processamento térmico nas clorofilas e antocianinas	82
3.3.4	Impacto de genótipos e processamento térmico nos atributos de cor	83
3.4	CONCLUSÕES.....	87
	REFERÊNCIAS.....	88
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
	REFERÊNCIAS	95
	APÊNDICE A – Tabelas de correlação.....	99

INTRODUÇÃO GERAL

A couve-flor pertencente à família das Brássicas, possui como característica principal a formação de uma inflorescência central e, por apresentar um elevado rendimento comercial, sua importância econômica no Brasil está ligada especialmente a pequenos produtores.

Vegetais pertencentes a família Brassicaceae, são conhecidos por sua elevada capacidade antioxidante, fonte de vitaminas e compostos bioativos que contribuem para uma dieta saudável e equilibrada (GUILLÉN et al., 2017; GUZMÁN et al., 2012). Estas propriedades nutricionais, bem como a facilidade no preparo, são aspectos visados pelos consumidores que buscam produtos vegetais de alta qualidade nutricional e sensorial (MARTINÉZ-HERNANDEZ et al., 2013). A aparência é um dos atributos de qualidade sensorial mais importantes nos alimentos, tanto frescos como processados (PATHARE et al., 2012; COSTA et al., 2011; GROSSMAN & WISENBLIT, 1999), considerada uma ferramenta de percepção do indivíduo sobre a qualidade dos alimentos, que resulta na aceitabilidade ou rejeição para o consumo (NISHA et al., 2011; PEREIRA et al., 2009; LEON et al., 2006).

A aparência visual está diretamente relacionada a cor do vegetal (PATHARE et al., 2012), que por sua vez pode estar correlacionado com outros atributos de qualidade, como fatores nutricionais (FRANCIS, 1995; KRAMER 1976) que refletem nos níveis dos antioxidantes e outros compostos bioativos.

Couves-flores brancas são geralmente as mais produzidas e consumidas e, dessa forma, as mais investigadas. O alto valor nutricional atribuído a esta hortaliça se relaciona ao seu impacto positivo na saúde humana, a redução do risco de doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares e câncer (AHMED & ALI, 2013). As inflorescências são ricas em vitaminas (vitaminas C, B1, B2 e B3), compostos fenólicos, glicosinolatos, fibras, minerais (KALISZ et al., 2018; JAHANGIR et al., 2009; PODSEDEK, 2007), carotenoides (DOS REIS et al., 2015, SHARDELL et al. 2011, PODSEDEK, 2007), tocoferóis e tocotrienóis (GUZMÁN et al., 2012; IBRAHIM & JUVIK, 2009).

Outra classe de compostos bioativos importantes encontrados em couves-flores são as aminas biogênicas (DIAMANTE et al., 2019) que, além da sua função antioxidante, estão relacionadas ainda com a regulação do ciclo celular e

desempenham papel fundamental na rota de síntese de importantes neurotransmissores (GOMEZ-GOMEZ et al., 2018).

Apesar da ampla gama de fitoquímicos encontrados em couve-flor, estas concentrações podem variar. Dessa forma, genótipos coloridos podem ser uma alternativa para diversificação do consumo de alimentos e aumento da ingestão de compostos promotores da saúde.

A pigmentação alaranjada em inflorescências de couves-flores brancas, por exemplo, foram identificadas e atribuídas a uma mutação rara no gene dos carotenoides [gene *Orange (Or)*] (CRISP et al., 1975; DICKSON et al., 1988), que conferiu acúmulo elevado de β -caroteno nos tecidos das plantas (LI et al., 2006). As couves-flores verdes se originaram a partir de uma mutação espontânea, neste caso ocorre desenvolvimento ectópico de cloroplastos em células meristemáticas da inflorescência (ZHOU et al., 2011). Enquanto que as antocianinas são os pigmentos majoritários em couves-flores de coloração roxa (CHIU et al., 2010; LO SCALZO et al., 2008).

Devido aos níveis elevados de pigmentos promotores de efeitos benéficos à saúde, esses vegetais podem ser considerados alimentos funcionais (CHIU et al., 2010). É relevante ressaltar que alimento funcional é definido pela Secretaria de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde do Brasil, na Portaria nº398 da RDC (Resolução da Diretoria Colegiada) nº 18/99, como um tipo de alimento ou componente alimentar que, quando consumido como parte da dieta habitual, além das funções nutritivas básicas, é capaz de produzir efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou benéficos à saúde, sendo seguro para consumo humano sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

Sabe-se que o consumo de couve-flor é realizado preferencialmente após o cozimento. Deste modo, análises relacionadas ao processamento térmico se tornam fundamentais para o entendimento do real valor nutricional dessa hortaliça.

Alguns estudos reportam que o cozimento pode aumentar a disponibilidade dos compostos bioativos hortaliças, retidos na matriz vegetal (BORGES et al., 2018; LIMA et al., 2017; MINATEL et al., 2017; PRETI, RAPA, VINCI, 2017; DOS REIS et al., 2015; SHAMS EL-DIN et al., 2013). Por outro lado, existe a influência do método escolhido e o tempo de cozimento para o preparo do alimento, que pode promover perdas de nutrientes, seja por processos de lixiviação, seja por destruição celular causada pela

alta temperatura e condições de meio (BORGES et al., 2018; MINATEL et al., 2017; PALERMO, PELLEGRINI, FOGLIANO, 2014).

É comum que muitos vegetais sejam cozidos por um processo simples, como em ebulição, vapor ou micro-ondas. Em ebulição, a alteração na concentração de nutrientes no material vegetal pode ocorrer por perdas por lixiviação dos compostos através da água (DOS REIS, et al., 2015), especialmente substâncias hidrossolúveis. Entretanto, para alguns compostos bioativos (carotenoides e alguns compostos fenólicos), o aquecimento em ebulição facilita a liberação (PELLEGRINI et al., 2010).

O cozimento a vapor é comumente utilizado no preparo em Brássicas, como em brócolis (RENNIE; WISE, 2009) e couve-flor. O uso do processamento a vapor tem algumas vantagens sobre a fervura. Neste caso, como a água não é usada como agente de aquecimento, algumas das propriedades do vegetal fresco são preservadas (ARRESTO, et al., 2016), o sabor é aprimorado e o tempo de cozimento pode ser mais curto (FRANCISCO et al., 2010; MIGLIO et al., 2008). O mesmo pode ser observado com o uso do micro-ondas, em geral neste tipo de cozimento se utiliza pouca ou nenhuma quantidade de água, a retenção dos nutrientes é maior, visto que possui maior capacidade, do que o vapor ou fervura, de afetar as paredes celulares dos vegetais (WACHTEL-GALOR et al., 2008) tornando disponíveis alguns fitoquímicos de difícil extração.

Além disso, as vantagens do uso do micro-ondas sobre o aquecimento convencional estão relacionadas ao tempo reduzido de processamento, alta eficiência energética e melhoria da qualidade dos alimentos (SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2012).

Cabe ressaltar que, o efeito do cozimento depende de vários fatores, como processamento térmico utilizado, temperatura, lixiviação no meio de cozimento, solvente usado para extração, pH e área de superfície exposta à água e oxigênio (WACHTEL-GALOR et al., 2008). Além disso, o mesmo método de cozimento pode ter efeitos diferentes em diferentes plantas, visto que os vegetais possuem vários compostos, alguns dos quais são termicamente lábeis e outros não (BERNHARDT; SCHLICH, 2006).

Durante o processamento de alimentos, alguns autores sugerem que a perda de vitamina E ou β -caroteno podem estar relacionadas a enzimas oxidativas (LESSIN et al., 1997; MURILLO, PLUMPTON, GAUNT, 1976). No entanto, não é clara a

resposta desses fitoquímicos nos alimentos quando submetidos a algum tipo de preparo antes do consumo.

Diferenças significativas são observadas em relação a coloração de hortaliças cozidas (brócolis, feijão verde e cenoura) em comparação ao vegetal cru (GUILLEN et al., 2017). Comparando diferentes matrizes vegetais (brócolis, repolho, espinafre, couve, couve-de-bruxelas, ervilha, abóbora e aspargos) após cozimento em fervura, Paciulli et al. (2017) constataram que, dentre elas, as inflorescências apresentam os maiores valores de degradação de clorofilas (90% em brócolis). Os autores ainda inferem que a taxa de degradação foi influenciada pelo tempo de tratamento, quanto maior tempo de permanência em fervura, mais evidente era a degradação (16% nas clorofilas totais após 3,5 minutos, 40% após 5 minutos e 90% após 8 minutos). Enquanto, os cozimentos em vapor e no micro-ondas apresentam menores perdas.

As moléculas de clorofila são termolábeis; portanto, quando expostas a algum tipo de processamento térmico sofrem modificações químicas e bioquímicas (RUNDRA et al., 2008). Assim como as antocianinas, compostos hidrossolúveis e apresentam esta mesma característica. Nos vegetais, este pigmento possui importante função biológica de proteção contra vários estresses bióticos e abióticos (CHIU et al., 2010; LO SCALZO et al., 2008).

O cozimento também altera os níveis de vitamina E em pimentão vermelho, cenoura e brócolis comparadas as amostras cruas, especialmente em brócolis (KNECHT et al. 2015). Resposta semelhante foi observada em espinafre por Chun et al., 2006. Modificações nos níveis de carotenoides induzidos por tratamento térmico que resultam em alterações na cor dos vegetais são relatados na literatura (AHMED, SHIVHARE, MANDEEP, 2002; TANSEY, GORMLEY, BUTLER, 2010), como por exemplo em cenouras, que além da redução dos níveis de carotenoides também apresentaram modificações em sua coloração, comparada com a dos vegetais crus.

Em brócolis, ao estimarem as alterações induzidas na atividade antioxidante das inflorescências após vários tipos de processamento (ebulição, ebulição a vácuo, vapor de baixa pressão, vapor de alta pressão, *sous vide*, micro-ondas, *sous vide*-micro-ondas, grelhado, fritura intensa e fritura intensa a vácuo), Martínez-Hernández et al. (2013) demonstraram que a capacidade antioxidante aumenta após o cozimento em todos os tratamentos, com exceção de ebulição a vácuo. Dos Reis et al. (2015) observaram em couve-flor (coloração branca), que o cozimento em micro-ondas (4 min) retém o conteúdo dos compostos fenólicos, assim como na inflorescência crua,

e quando submetidas ao cozimento a vapor por 20 min, maiores níveis de carotenoides são observados.

No estudo do efeito do cozimento em feijões verdes, por exemplo, Lima et al. (2017) verificaram que, após o processo de cozimento, os níveis de carotenoides aumentam, contudo, a atividade antioxidante (DPPH) reduz e, os cozimentos em fervura e micro-ondas induzem a liberação de clorofila. Petri, Rapa e Vinci (2017) reportam que o cozimento por fervura (10 min) reduz a capacidade antioxidante por DPPH em feijões vagem coloridos. O mesmo foi observado por Rennie e Wise, (2009), que afirmam que o processamento a vapor é o mais indicado para certos vegetais, devido a textura do alimento após tratamento térmico ser mais aceitável.

O estudo comparativo de métodos de cocção, bem como o tempo em que esse material fica exposto ao calor, podem trazer respostas consideráveis para manutenção da qualidade nutricional da couve-flor.

Assim, objetivou-se avaliar efeito do tratamento térmico por diferentes métodos e tempos de cocção (fervura, vapor e micro-ondas) no perfil bioquímico de inflorescências de couves-flores coloridas. Este trabalho pretende contribuir com informações sobre os níveis de compostos bioativos em couves-flores coloridas antes e após cozimento.

CAPÍTULO 1

Perfil físico-químico de couves-flores coloridas antes e após processamento térmico

(artigo publicado no periódico científico Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha)

Marla Silvia Diamante¹, Cristine Vanz Borges¹, Mônica Bartira da Silva², Gean Charles Monteiro¹, Giovana Rafaela Stelzer Monar³, Giuseppina Pace Pereira Lima⁴

¹Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Departamento de Horticultura, Rua José Barbosa de Barros, CEP: 18610-307, Botucatu São Paulo, Brasil. E-mail: marlasdiamante@gmail.com; cristine.vanzb@gmail.com, gean.monteiro@yahoo.br. ²Universidade do Estado de Mato Grosso, Departamento de Agronomia, Av. Tancredo Neves, 1095 - Cavanhada II, CEP: 78200-000, Cáceres, Mato Grosso, Brasil. E-mail: monica.bartira@hotmail.com ³Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, CEP: 18618-693, Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: giovanastelzer23@gmail.com ⁴Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Química e Bioquímica, CEP: 18618-693, Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: finalima@gmail.com

RESUMO

O uso de cultivares de couve-flor coloridas surge com uma alternativa na busca para a diversificação da dieta e aumento da ingestão de compostos promotores da saúde humana. No entanto, estes nutrientes e/ou compostos biologicamente ativos presentes nas diferentes cultivares são altamente influenciados pelas condições ambientais e pelos fatores pós-colheita que são submetidos. Por isso, o objetivo do presente trabalho foi determinar o perfil físico-químico de diferentes cultivares coloridas submetidas a diferentes processamentos térmicos. Foram utilizadas as cultivares Forata (coloração branca), Verde di Macerata (coloração verde), Graffiti (coloração roxa) e o híbrido F1 'Cheddar' conduzidas em sistema convencional de produção. Os floretes foram submetidos aos tratamentos térmicos em ebulição, a vapor e por micro-ondas em diferentes tempos de preparo (5 e 10 min) e após foram realizadas as análises físico-químicas. Pode-se constatar variação no teor dos compostos químicos, dependendo do genótipo analisado e do processamento térmico empregado. A cv. Forata apresentou os maiores teores de carboidratos solúveis totais (CST) (5,47 g 100 g⁻¹ m.f.) e Ratio (72,51) e a cv. Graffiti apresentou valores superiores de sólidos solúveis totais (SST) (9,6) e proteínas (8,34), destacando-se das demais.

O processamento em ebulição resultou em perdas significativas de SST e CST, diferentemente dos métodos onde foram utilizadas menores quantidades de água para o processamento das inflorescências (i.e., micro-ondas e vapor, respectivamente). Os métodos a vapor e micro-ondas resultaram em valores superiores de SST, independente da cultivar analisada. O cozimento dos floretes em ebulição reduziu significativamente os teores da maioria dos compostos químicos analisados (AT, SST e CST). Pode concluir, que os métodos de cocção a vapor e, principalmente, o método de cocção por micro-ondas são os métodos de cozimento mais apropriados para o processamento de couve-flor, pois aumentam o valor nutricional da hortaliça, independente da cultivar analisada.

Palavras-chave: *Brassica oleracea var. botrytis*; cozimento; carboidratos.

PHYSICOCHEMICAL PROFILE OF COLORED CAULIFLOWERS BEFORE AND AFTER THERMAL PROCESSING

ABSTRACT

The use of colored cauliflower cultivars appears with an alternative in the search for the diversification of the diet and increase in the intake of compounds promoting human health. However, these nutrients and/or biologically active compounds present in the different cultivars are highly influenced by the environmental conditions and the post-harvest factors that are submitted. Therefore, the aim of the present work was to determine the physico-chemical profile of different colored cultivars submitted to different thermal processes. The cultivars Forata (white color), Verde di Macerata (green coloration), Graffiti (purple coloration) and F1 'Cheddar' hybrid were conducted in a conventional production system. The florets were submitted to boiling, steam and microwave thermal treatments at different preparation times (5 and 10 min) and after the physical-chemical analysis. It is possible to observe variation in the content of the chemical compounds, depending on the genotype analyzed and the thermal processing used. The cv. Forata presented the highest levels of total soluble carbohydrates (CST) (5.47 g 100 g⁻¹ m.f.) and Ratio (72.51) and cv. Graffiti presented higher values of total soluble solids (TSS) (9.6) and proteins (8.34), standing out from the others. Boiling processing resulted in significant losses of SST and CST, unlike

methods where smaller amounts of water were used for processing the inflorescences (i.e., microwaves and steam, respectively). The steam and microwave methods resulted in higher values of SST, independent of the cultivar analyzed. The cooking of the boiled florets significantly reduced the contents of most of the analyzed chemical compounds (AT, SST and CST). It can be concluded that steam cooking methods and, especially, the microwave cooking method are the most appropriate cooking methods for cauliflower processing, since they increase the nutritional value of the vegetables, regardless of the cultivar analyzed.

Keywords: *Brassica oleracea* var. *botrytis*; cooking; carbohydrates.

1.1 INTRODUÇÃO

A couve-flor é uma excelente fonte de compostos biologicamente ativos, que agem na prevenção de doenças cardiovasculares, cânceres, diabetes e outras doenças crônicas (Dos Reis et al., 2015). Existem diversas cultivares de couves-flores, sendo as de coloração branca as mais plantadas e consumidas atualmente. Apesar destas cultivares tradicionais apresentarem quantidades significativas de vitaminas (vitaminas C, B1, B2 e B3), fenólicos, glicosinatos, fibras (Podsdek, 2007), minerais (Kalisz et al., 2018) e compostos biologicamente ativos (Dos Reis et al., 2015) as cultivares coloridas (i.e. amarelas, verdes e roxas) estão sendo pesquisadas por apresentarem quantidades superiores de compostos biologicamente ativos (Park et al., 2013).

O uso e o estudo de novas cultivares surge como uma alternativa pela busca da diversificação da dieta e aumento da ingestão de compostos promotores da saúde humana. Cabe ressaltar, no entanto, que além do material genético, que os nutrientes e/ou compostos fitoquímicos presentes nos vegetais são altamente influenciados pelas condições ambientais e pelos fatores pós-colheita em que são submetidos (Jahangir et al., 2009; Kalisz et al., 2018). Outro fator relevante para os estudos com Brassicas é que os tipos de processamentos térmicos aplicados nas inflorescências podem alterar significativamente o teor dos compostos químicos presentes no vegetal, podendo muitas vezes aumentar ou até mesmo diminuir a qualidade do produto final (Dos Reis et al., 2015; Mansour et al., 2015).

Estudos recentes reportam, por exemplo, que o cozimento pode aumentar a disponibilidade dos compostos bioativos em frutos e hortaliças, por facilitar à extração de certos metabólitos da matriz vegetal (Borges et al., 2018; Dos Reis et al., 2015; Lima et al., 2017; Minatel et al., 2017; Preti, Rapa, e Vinci, 2017; Shams El-Din et al., 2013). Porém, dependendo do método utilizado e do tempo de preparo do alimento, pode promover perdas de nutrientes, principalmente por processos de lixiviação e de destruição celular causada pela alta temperatura e condições de meio (Borges et al., 2018; Minatel et al., 2017; Palermo, Pellegrini, e Fogliano, 2014).

Mansour et al. (2015) trabalhando com diferentes compostos físico-químicos em brócolis e couve-flor observaram efeito significativo no conteúdo de carboidrato nos floretes após o processamento térmico a vapor, branqueamento em ebulição e em micro-ondas, ocasionando reduções significativas no teor deste nutriente. No entanto, o menor teor de carboidratos (base úmida) foi observado nos brócolis e couve-flor branqueados em ebulição. Ahmed e Ali (2013), observaram também que em brócolis e couve-flor submetidos ao processamento termicamente em ebulição (6 min) tiveram efeitos significativos sobre os componentes nutricionais, causando perdas no conteúdo de matéria seca, proteína, mineral e no teor de fitoquímicos nas amostras analisadas. Os tratamentos a vapor (6 min) e micro-ondas (3 min e 30 s) foram os que apresentaram as menores reduções.

Além do método, o tempo em que o vegetal é submetido ao preparo influenciou significativamente os compostos químicos analisados. Por exemplo, estudos relatam que os níveis de fitoquímicos (e.g. carotenoides), reduziram significativamente em couve-flor, brócolis e repolho cozidos em fervura por 6 minutos. No entanto, quando o tempo de cocção foi menor (4 min) não houve redução significativa nos tratamentos. Volden et al. (2009) trabalhando com diferentes cultivares de couve-flor verificaram que o cozimento em ebulição por 10 minutos ocasionou redução de 27% no conteúdo fenólico total e 33% na capacidade atividade antioxidante pelo método do FRAP. Na couve-flor roxa este mesmo tratamento térmico promoveu redução de até 53% no conteúdo das antocianinas. O cozimento a vapor (10 min) foi o que menos provocou perdas dos antioxidantes. As maiores perdas verificadas no método em ebulição foram atribuídas a lixiviação dos nutrientes na água de cozimento. Os autores também observaram que o cozimento em micro-ondas é o preferível em relação às retenções da maioria dos compostos químicos analisados, como os carotenoides, compostos

fenólicos totais e a capacidade antioxidante do material analisado (Shams El-Din et al., 2013).

Desta forma, este estudo objetivou avaliar o perfil físico-químico de inflorescências das cultivares de couves-flores coloridas *in natura* e após diferentes processamentos térmicos e tempos de cocção.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

As inflorescências utilizadas neste estudo foram provenientes de áreas de cultivo comercial, conduzidas em sistema convencional de produção. As cultivares Forata (coloração branca), Verde di Macerata (coloração verde) e o híbrido F1 'Cheddar' (coloração amarela) foram obtidos em uma propriedade rural localizada no município de Pardinho – SP (latitude 23° 02' S, longitude 48° 22' W e 912 m de altitude), enquanto que a cv. Graffiti (coloração roxa), foi proveniente da cidade de Piedade – SP [23° 42' S (latitude) e 47° 25' W (longitude)]. O clima de ambas as localidades é considerado do tipo mesotérmico subtropical úmido (tipo Cwa), com inverno seco e verão quente (Schneider e Costa, 2013).

Após a colheita, as inflorescências foram higienizadas com água de abastecimento, cortadas em floretes de aproximadamente cinco centímetros e submetidas a imersão em água clorada com 100 mg L⁻¹ de hipoclorito de sódio durante 10 minutos, lavadas novamente em água e homogeneizadas. Os floretes foram agrupados em porções de aproximadamente 250 g e submetidos aos tratamentos térmicos, baseados em diferentes métodos e tempos de cocção, e um grupo controle *in natura*, para cada cultivar. Para a cozimento em ebulição, os floretes foram fervidos em panela de inox (com tampa), em um litro de água. No cozimento a vapor, as amostras foram colocadas em uma panela vaporeira de inox (com tampa), com 800 mL de água. E no tratamento por micro-ondas, as amostras foram colocadas em um refratário de vidro com 100 mL de água, coberto por filme plástico PVC transparente. A água remanescente foi drenada dos recipientes e as inflorescências foram resfriadas à temperatura ambiente. A partir dos tratamentos térmicos empregados, as inflorescências (floretes) foram pulverizadas e armazenadas a - 20 °C antes da realização das análises (n=3).

O Teor de Umidade (%U) foi calculado por meio da fórmula: $\%U = ((MI - MF) \times 100)/MI$. A massa inicial (MI) se refere à massa fresca das couves-flores (após processamento térmico e in natura) e MF se refere a massa final, ou seja, o material liofilizado.

A Acidez Titulável (AT) foi determinada em extrato aquoso, utilizando 5 g de couve-flor homogeneizada em 50 mL de água destilada e tituladas em NaOH 0,1 N. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido málico por 100 g de amostra fresca (IAL, 2008). O teor de Sólidos Solúveis (SS) nas amostras foi analisado usando refratômetro digital (modelo Atago, PAL-1), com resultados expressos em °Brix (IAL, 2008). E o pH das inflorescências de couves-flores foi determinado utilizando-se potenciômetro (modelo Q Quimis – 400^a) (AOAC, 2005).

A quantificação dos Carboidratos Solúveis Totais (CST) foi realizada por análise colorimétrica pelo método fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956) e solução de glicose como padrão ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$). A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm, sendo os CST expressos em gramas por 100 grama de massa fresca ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ m.f.}$).

O teor de Proteínas Totais (PT) foi determinado pelo método Kjeldahl, que determina a matéria nitrogenada total de uma amostra por meio da digestão em H_2SO_4 , seguida pelo processo de destilação e, por fim, titulação. Os resultados foram calculados e expressos em porcentagem, usando o fator de conversão 5,75, determinado para proteínas vegetais (AOAC, 2005).

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{K \times V \times F}{P}$$

Onde:

$K = Fc \times 0,0014 \times 100$

$Fc =$ fator de correção da solução de ácido sulfúrico 0,1 N

$P =$ massa da amostra em gramas

$V =$ volume de solução de ácido sulfúrico gasto na titulação

$F =$ fator de conversão do nitrogênio em proteína vegetal (5,75)

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 28 tratamentos (4 cultivares x 3 métodos de cocção x 2 tempos de cocção + controle in

natura), com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste Scott-Knott (5% de probabilidade). Em um segundo momento, foi realizada a ANOVA dos dados para cada couve-flor ('Verde di Macerata', 'Cheddar', 'Forata' e 'Graffiti') separadamente, totalizando 7 tratamentos por cultivar (3 métodos de cocção x 2 tempos de cocção + controle *in natura*), seguido do teste de média Scott-Knott ($p < 0.05$). Os dados foram analisados por meio do software estatístico SISVAR (Ferreira, 2011). A análise dos componentes principais (APC) foi realizada com intuito de visualizar o efeito do processamento térmico no conteúdo dos atributos físico-químicos nas cultivares de couve-flor, utilizando o software XLSTAT.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor dos compostos químicos variável significativamente dependendo do genótipo analisado e do processamento térmico empregado (Tabela 1). As cvs. Graffiti (roxa) e Forata (branca) foram as que apresentaram destaque na maioria dos compostos químicos (*in natura*). A cv. Forata apresentou os maiores teores de carboidratos solúveis totais (CST) (5,47 g 100 g⁻¹ m.f.) e Ratio (72,51). Já a cv. Graffiti apresentou valores superiores de sólidos solúveis totais (SST) (9,6 °Brix) e proteínas (8,34%) (Tabela 1). No entanto, após o processamento térmico estes valores tiveram grande variação, dependendo do modo de preparo e do composto analisado.

Pode-se perceber claramente que as características físico-químicas avaliadas variaram significativamente, principalmente, conforme o processamento térmico utilizado (Tabela 1). Realmente, estudos recentes reportam que o cozimento pode aumentar ou diminuir a disponibilidade de compostos químicos em vegetais, conforme o método e o tempo de preparo em que são submetidas as amostras (Dos Reis et al., 2015; Lima et al., 2017; Minatel et al., 2017; Preti et al., 2017; Shams El-Din et al., 2013; Volden et al., 2009). No geral, o processamento por ebulição resultou em níveis superiores de umidade, provavelmente, pelo contato direto da matriz alimentar com a água fervente neste tipo de preparo. Cabe ressaltar, que o processamento em ebulição resultou em perdas significativas de SST e CST, diferentemente dos métodos onde foram utilizadas menores quantidades de água para o processamento das inflorescências (i.e., micro-ondas e vapor, respectivamente). Os métodos a vapor e

micro-ondas resultaram em valores superiores de SST, independente da cultivar analisada (Tabela 1). Os efeitos do cozimento são afetados por muitos fatores, incluindo a matriz alimentar, o método e a condição do processamento utilizado, bem como a natureza química do composto analisado. Trabalhos realizados com brócolis e couve-flor também relataram que os métodos que não utilizam água ou os que utilizam pequenas quantidades para o processamento térmico tendem a ter menores perdas de SST e de outros compostos químicos (e.g. compostos fenólicos). No geral, o processamento em micro-ondas é o método onde maiores teores de compostos químicos são relatados (Dos Reis et al., 2015; Wu et al., 2019).

No presente estudo, o método de cocção em micro-ondas também resultou em valores superiores de CST na maioria das cultivares analisadas. No entanto, valores superiores de proteínas foram verificados quando as inflorescências foram submetidas ao processo de ebulição, principalmente para a cv. Graffiti, onde os maiores teores deste nutriente foram detectados (Tabela 1). Estudos realizados com brócolis e couve-flor verificaram que o método em ebulição ocasionou maior redução de matéria seca, proteína e minerais, quando comparados aos métodos de vapor (6 min e 15 s) e ao método de cocção em micro-ondas (3min e 30 s) (Ahmed e Ali, 2013), diferentemente do verificado no presente trabalho.

Numa tentativa de estabelecer um modelo descritivo de agrupamento dos diferentes processamentos térmicos e das cultivares de couve-flor analisadas optou-se pela análise de componentes principais (ACP) ao conjunto de dados químicos. Em seu conjunto CP1 e a CP2 explicaram 84,42% da variância do conjunto de dados (Figura 1). A CP2 explicou 41,43% da variância dos dados e a umidade foi a variável que apresentou maior correlação com esse eixo (fator de carga: 0,99). As cvs. Cheddar e Forata foram as que apresentaram maiores teores de umidade e de pH, independente do processamento térmico utilizado (CP2+).

No geral, as inflorescências apresentaram perda de umidade quando submetidas aos métodos de cocção, apresentando maior teor de água quando cozidas em ebulição, seguida do cozimento a vapor e micro-ondas. O cozimento a 10 minutos em micro-ondas foi o que ocasionou maior redução da porcentagem de umidade nas couves-flores e, conseqüentemente gerou maiores teores de alguns compostos pela redução da água nas amostras analisadas.

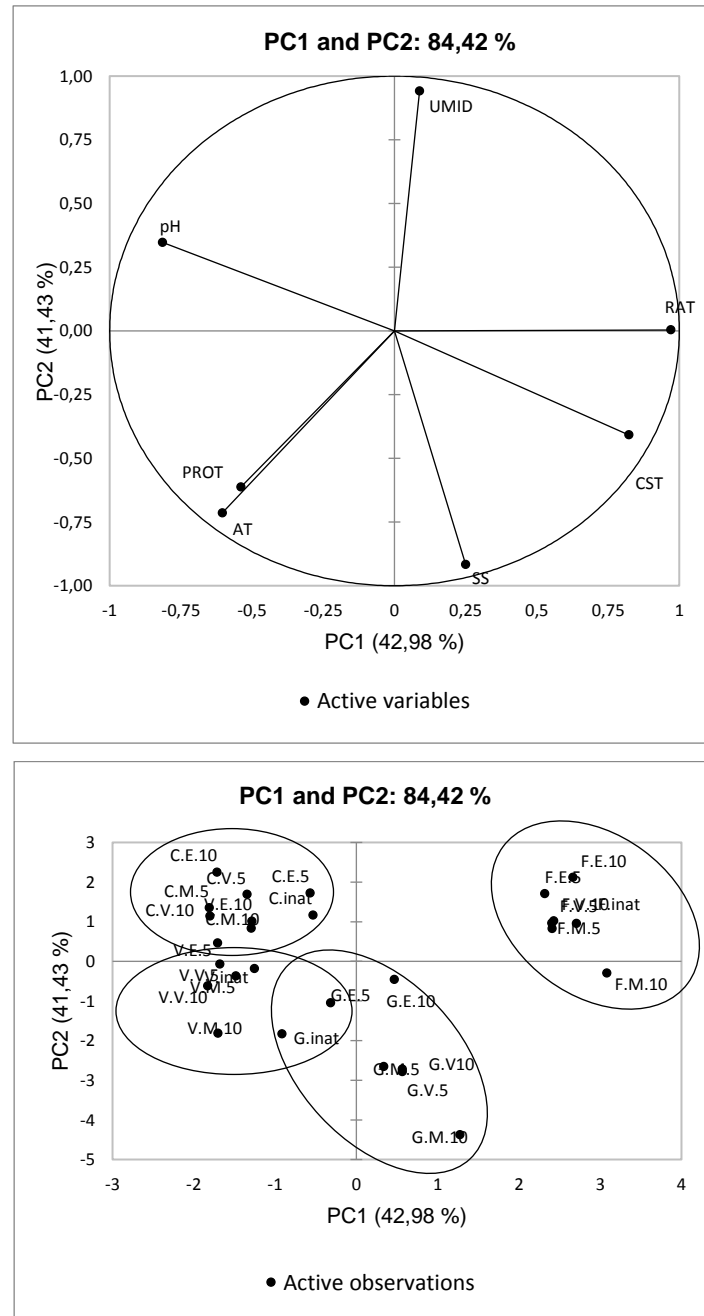


Figura 1. Projeção bidimensional (A) e escores (B) de atributos físico-químicos (umidade, sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável, proteína e carboidratos solúveis totais) nos dois primeiros componentes principais entre as cultivares de couve-flor Cheddar (C), Verde di Macerata (V), Forata (F) e Graffiti (G) avaliadas na forma in natura e após os diferentes processamentos térmicos, ebulição (E), a vapor (V) e em micro-ondas (M) e nos diferentes tempos de cocção (5 e 10 min).

A cv. Forata apresentou os maiores teores de CST (5,47 g 100 g⁻¹ m.f.) e Ratio (89), com forte correlação com a CP1 (42,98%), principalmente quando os floretes foram submetidos ao método de cocção em micro-ondas (10 min). A cv. Graffiti apresentou também grande destaque nos teores de CST, além disso apresentou conteúdo superior de SST (10,87 °Brix), apresentando forte correlação com esta variável, principalmente quando os floretes foram submetidos ao tratamento em micro-ondas (10 min) (PC1+ e PC2-) (Figura 1 e Tabela 1). Pela ACP, pode-se perceber que a cocção dos floretes em micro-ondas foi o tratamento que resultou em elevados teores destes compostos químicos (Figura 1), o que pode ser resultado dos menores teores de umidade encontrado nas amostras, como salientado anteriormente. O processo de micro-ondas resultou em maiores quantidades de SST e Ratio, provavelmente, pela perda de água após o processo, o que gerou maior concentração de açúcares e também pelo processo de aquecimento mais lento dos tecidos vegetais tornando os compostos mais disponíveis (Dos Reis et al., 2015). Em contrapartida, o método em ebulição resultou em maior umidade, provavelmente pelo contato direto com água fervente.

A cv. Graffiti também apresentou os maiores teores de proteínas, principalmente quando os floretes foram submetidos à fervura (5 min). Cabe ressaltar, que a cv. Verde di Marcerata também apresentou níveis significativos de proteínas. Esta cultivar apresentou grande destaque no teor de acidez titulável (0,09 a 0,23 % de ácido málico por 100 g m.s., Tabela 1), apresentando forte correlação com esta variável química (PC1 e PC2-) (Figura 1), principalmente nos tratamentos que não foram utilizados a água (ou em menores quantidades) para a cocção dos floretes (vapor e micro-ondas). Os níveis de AT diminuíram após o cozimento em ebulição em todas as cultivares (Tabela 1). De fato, estudos anteriores indicam que este tipo de processamento pode resultar em aumentos de pH em brócolis pela redução da acidez do alimento em contato com a água em ebulição, o que pode ocasionar mudança da cor da clorofila da matriz alimentar (Dos Reis et al., 2015), ocasionando perdas na qualidade do produto final. Estudos indicam que o método de cocção em micro-ondas é o mais eficiente em preservar a coloração em brassicas (brócolis, couve de Bruxelas e couve-flor), quando comparados com os métodos a vapor e em ebulição (Dos Reis et al., 2015; Pellegrini et al., 2010).

Apesar de vários estudos recentes reportarem que o cozimento pode aumentar a disponibilidade dos compostos bioativos nos vegetais (Dos Reis et al., 2015; Lima

et al., 2017; Minatel et al., 2017; Preti et al., 2017; Shams El-Din et al., 2013; Volden et al., 2009), é importante ressaltar que existe influência do método de cozimento escolhido e do tempo em que o alimento fica exposto ao calor. Geralmente, o cozimento facilita à extração de certos metabólitos da matriz vegetal (Borges et al., 2018; Palermo et al., 2014). Porém, dependendo do método, pode promover perdas de nutrientes, principalmente pela lixiviação dos nutrientes para a água em ebulição e destruição celular causada pela alta temperatura utilizada (Lima et al., 2017; Wu et al., 2019). Procedimentos de cocção que utilizam menos água e / ou menor tempo (como micro-ondas e cozimento a pressão) de contanto com altas temperaturas podem preservar e/ou até mesmo aumentar o conteúdo de compostos químicos em vegetais pela ruptura e contato do tecido celular com o calor (aquecimento mais lento), ocasionando maior extração dos compostos químicos do material analisado (Dos Reis et al., 2015; Wu et al., 2019). No entanto, principalmente no método de micro-ondas, os resultados podem ser diferentes se os parâmetros de processamento forem alterados, como o tempo de cozimento, volume de água adicionado e tipo de cobertura utilizada.

Tabela 1. Umidade (U%), acidez titulável (AT), sólidos solúveis totais (SST), ratio, pH, proteínas totais (PT) e carboidratos solúveis totais (CST) nas cultivares estudadas, antes e após processamento térmico (média \pm desvio padrão, n = 3).

Métodos de cocção	Tempo (min)	U%	AT	SST	Ratio	pH	Proteína (%)	CST (g 100 g ⁻¹ m.f.)
			(% ác. málico 100 g ⁻¹ m.f.)	(°Brix)				
Verde di Macerata								
Fervura	Cru	90,09 \pm 0,42	0,16 \pm 0,01 c*B**	5,40 \pm 0,35 cA	33,91 \pm 1,13 eA	6,71 \pm 0,10 cA	7,29 \pm 0,43 cB	1,39 \pm 0,12 fB
	5	91,25 \pm 0,51	0,14 \pm 0,02 cB	3,73 \pm 0,31 dB	27,51 \pm 4,35 fB	6,76 \pm 0,05 cA	8,46 \pm 0,22 bA	1,31 \pm 0,10 fB
	10	91,31 \pm 0,36	0,11 \pm 0,01 dC	3,57 \pm 0,21 dB	33,71 \pm 2,27 eA	6,80 \pm 0,03 bA	7,25 \pm 0,03 cB	1,26 \pm 0,15 fB
Vapor	5	89,56 \pm 0,04	0,23 \pm 0,02 aA	5,10 \pm 0,30 cA	22,17 \pm 2,84 fC	6,79 \pm 0,05 bA	7,20 \pm 0,02 cB	1,37 \pm 0,17 fB
	10	89,09 \pm 0,03	0,21 \pm 0,02 bA	4,93 \pm 0,55 cA	23,52 \pm 1,36 fC	6,85 \pm 0,01 bA	7,05 \pm 0,25 dB	2,25 \pm 0,20 eA
Micro-ondas	5	89,38 \pm 0,59	0,17 \pm 0,01 cB	4,90 \pm 0,26 cA	28,37 \pm 2,27 fB	6,84 \pm 0,05 bA	7,51 \pm 0,24 cB	2,35 \pm 0,41 eA
	10	84,87 \pm 1,83	0,23 \pm 0,02 aA	5,30 \pm 0,46 cA	23,20 \pm 2,22 fC	6,75 \pm 0,05 cA	6,76 \pm 0,02 dB	2,40 \pm 0,27 eA
Cheddar								
Fervura	Cru	92,95 \pm 0,04	0,12 \pm 0,01 dA	4,30 \pm 0,20 dA	34,67 \pm 3,63 eB	6,55 \pm 0,05 dB	5,86 \pm 0,58 eC	1,08 \pm 0,12 fD
	5	93,24 \pm 0,85	0,09 \pm 0,01 eB	3,17 \pm 0,15 eB	35,91 \pm 4,67 eB	6,91 \pm 0,07 aA	6,02 \pm 0,02 eC	2,88 \pm 0,22 dA
	10	93,91 \pm 0,22	0,09 \pm 0,01 eB	2,50 \pm 0,35 eC	28,16 \pm 3,26 fC	6,97 \pm 0,02 aA	6,88 \pm 0,21 dA	1,02 \pm 0,11 fD
Vapor	5	92,26 \pm 0,07	0,09 \pm 0,00 eB	4,00 \pm 0,35 dA	40,87 \pm 0,31 dA	7,00 \pm 0,05 aA	6,31 \pm 0,04 eB	1,89 \pm 0,08 eB
	10	92,62 \pm 0,14	0,15 \pm 0,00 cA	3,80 \pm 0,00 dA	27,79 \pm 3,27 fC	6,94 \pm 0,02 aA	6,72 \pm 0,02 dA	1,41 \pm 0,12 fC
Micro-ondas	5	92,05 \pm 0,27	0,13 \pm 0,04 dA	3,80 \pm 0,10 dA	25,25 \pm 3,90 fC	6,94 \pm 0,11 aA	6,15 \pm 0,19 eC	0,98 \pm 0,12 fD
	10	89,98 \pm 0,38	0,13 \pm 0,00 dA	4,30 \pm 0,44 dA	34,09 \pm 0,36 eB	6,95 \pm 0,11 aA	5,43 \pm 0,18 fD	1,57 \pm 0,18 fC

Continuação Tabela 1

		Forata						
	Cru	92,57 ± 0,37	0,07 ± 0,00 eA	4,83 ± 0,32 cC	72,51 ± 4,64 bB	6,26 ± 0,01 fB	3,72 ± 0,38 hB	3,92 ± 0,73 cB
Fervura	5	93,14 ± 0,05	0,04 ± 0,01 fB	3,80 ± 0,53 dD	79,00 ± 0,54 bB	6,45 ± 0,06 eA	4,30 ± 0,16 gA	3,44 ± 0,32 cC
	10	93,32 ± 0,03	0,03 ± 0,01 fC	3,80 ± 0,10 dD	95,32 ± 1,23 aA	6,48 ± 0,09 dA	3,43 ± 0,18 hB	2,86 ± 0,18 dC
Vapor	5	91,67 ± 0,28	0,07 ± 0,00 eA	5,03 ± 0,15 cC	75,67 ± 2,15 bB	6,50 ± 0,08 dA	3,36 ± 0,41 hB	4,17 ± 0,47 bB
	10	92,49 ± 0,14	0,07 ± 0,01 eA	5,37 ± 0,25 cB	76,17 ± 11,46 bB	6,52 ± 0,03 dA	3,54 ± 0,22 hB	4,29 ± 0,36 bB
Micro-ondas	5	91,63 ± 0,29	0,07 ± 0,00 eA	5,50 ± 0,20 cB	83,08 ± 3,43 bB	6,49 ± 0,02 dA	3,82 ± 0,16 hB	3,71 ± 0,09 cB
	10	89,40 ± 0,55	0,07 ± 0,01 eA	6,60 ± 0,17 bA	89,00 ± 8,45 aA	6,51 ± 0,00 dA	4,26 ± 0,62 gA	5,47 ± 0,24 aA
		Graffiti						
	Cru	89,40 ± 3,79	0,19 ± 0,01 bA	9,60 ± 0,26 bA	49,92 ± 3,01 cB	6,82 ± 0,06 bA	8,34 ± 0,04 bB	2,16 ± 0,13 eD
Fervura	5	88,89 ± 0,70	0,12 ± 0,01 dB	6,40 ± 0,30 bB	51,12 ± 5,18 cB	6,42 ± 0,05 eC	9,46 ± 0,00 aA	1,25 ± 0,29 fE
	10	90,71 ± 0,34	0,11 ± 0,02 dB	5,73 ± 0,21 cB	60,34 ± 2,01 bA	6,49 ± 0,02 dB	8,62 ± 0,99 bB	2,73 ± 0,06 dC
Vapor	5	87,24 ± 0,49	0,18 ± 0,01 cA	9,40 ± 1,14 bA	53,67 ± 7,52 cB	6,43 ± 0,05 eC	8,29 ± 0,33 bB	3,67 ± 0,33 cB
	10	87,47 ± 0,53	0,19 ± 0,04 bA	9,10 ± 0,46 bA	57,87 ± 6,54 bA	6,48 ± 0,02 dB	8,26 ± 0,14 bB	3,89 ± 0,31 cB
Micro-ondas	5	86,56 ± 0,95	0,17 ± 0,01 cA	8,67 ± 0,38 bA	52,00 ± 0,71 cB	6,52 ± 0,03 dB	8,52 ± 0,36 bB	3,81 ± 0,42 cB
	10	83,68 ± 0,21	0,20 ± 0,04 bA	10,87 ± 1,72 aA	63,79 ± 6,04 bA	6,41 ± 0,03 eC	8,47 ± 0,37 bB	5,22 ± 0,40 aA
CV (%)		-	12,86	8,99	8,93	0,82	5,08	10,76
Verde di	CV (%)	-	9,14	7,75	9,26	0,80	3,10	12,76
Macerata	CV (%)	-	13,69	7,26	9,89	1,02	4,08	9,26
Forata	CV (%)	-	7,00	5,62	7,29	0,77	9,12	9,97
Graffiti	CV (%)	-	14,73	9,72	9,04	0,59	5,19	9,38

m.f. = massa fresca

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

**Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna (por cultivar), não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

1.4 CONCLUSÃO

O genótipo e o processamento térmico promovem alterações significativas nos atributos físico-químicos de couve-flor branca, amarela, verde e roxa. As cvs. Graffiti (roxa) e Forata (branca) foram as que apresentaram destaque na maioria dos compostos presentes no material in natura. No entanto, o cozimento dos floretes em ebulição reduz os teores da maioria dos compostos químicos analisados (AT, SST e CST), pois promove redução acentuada destes componentes por processos de diluição e/ou lixiviação e pelas perdas geradas pela alta temperatura empregada neste tipo de preparo. Cabe ressaltar, que métodos de cocção a vapor e, principalmente, o método de cocção por micro-ondas são os métodos de cozimento mais apropriados para o processamento de couve-flor, pois aumentam o valor nutricional da hortaliça, independente da cultivar analisada.

REFERÊNCIAS

- Ahmed, F. A., Ali, R.F.M. 2013. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh and processed white cauliflower. *Biomed Res. Int.* 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/367819>
- AOAC. 2005. Official methods of analysis of the Association of official analytical chemists, 18th ed. AOAC International. Official method 925.10, Gaithersburg, MD, USA.
- Borges, C.V., Minatel, I.O., Amorim, E.P., Belin, M.A.F., Gomez-Gomez, H.A., Correa, C.R., Lima, G.P.P. 2018. Ripening and cooking processes influence the carotenoid content in bananas and plantains (*Musa spp.*). *Food Res. Int.* 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.022>
- Dos Reis, L.C.R., de Oliveira, V.R., Hagen, M. E. K., Jablonski, A., Flôres, S. H., & de Oliveira Rios, A. 2015. Effect of cooking on the concentration of bioactive compounds in broccoli (*Brassica oleracea* var . Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var . Alphina F1) grown in an organic system. *Food Chem.* 172, 770–777.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28,

- 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Ferreira, D.F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 35, 1039–1042. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Jahangir, M., Kim, H.K., Choi, Y.H., Verpoorte, R. 2009. Health-Affecting Compounds in Brassicaceae. *Compr. Rev. FOOD Sci. FOOD Saf.* 8, 31–43.
- Kalisz, A., Sekara, A., Smolen, S., Grabowska, A., Gil, J., Cebula, S. 2018. Mineral composition of cauliflowers with differently coloured curds modified by the chilling of juvenile plants. *Scientia Horticulturae.* 232, 216–225. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.010>
- Lima, G.P.P., Costa, S.M., Monaco, K. de A., Uliana, M.R., Fernandez, R.M., Correa, C.R., Vianello, F., Cisneros-Zevallos, L., Minatel, I.O. 2017. Cooking processes increase bioactive compounds in organic and conventional green beans. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 68, 919–930. <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1324563>
- Mansour, A.A., M.Elshimy, N., Shekib, L.A., Sharara, M.S. 2015. Effect of Domestic Processing Methods on the Chemical Composition and Organoleptic Properties of Broccoli and Cauliflower. *Am. J. Food Nutr.* 3, 125-130. <https://doi.org/10.12691/AJFN-3-5-3>
- Minatel, I.O., Borges, C.V., Ferreira, M.I., Gomez, H.A.G., Chen, C.-Y.O., Lima, G.P.P. 2017. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability, in: *Phenolic Compounds - Biological Activity*. InTech, p. 64. <https://doi.org/10.5772/66368>
- Palermo, M., Pellegrini, N., Fogliano, V. 2014. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 94, 1057–1070. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6478>
- Park, S., Lim, S., Ha, S., Yeo, Y., Park, T., Kwon, D.Y., Park, S.U., Kim, J.K. 2013. Metabolite Profiling Approach Reveals the Interface of Primary and Secondary Metabolism in Colored Cauliflowers (*Brassica oleracea* L . ssp . botrytis). <https://doi.org/10.1021/jf401330e>
- Pellegrini, N., Chiavaro, E., Gardana, C., Mazzeo, T., Contino, D., Gallo, M., Riso, P., Fogliano, V., Porrini, M. 2010. Effect of different cooking methods on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and frozen brassica vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 58, 4310–21. <https://doi.org/10.1021/jf904306r>

- Podsedeck, A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.023>
- Preti, R., Rapa, M., Vinci, G. 2017. Effect of steaming and boiling on the antioxidant properties and biogenic amines content in green bean (*Phaseolus vulgaris*) varieties of different colours. *J. Food Qual.* 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5329070>
- Shams El-Din, M.H.A., Abdel-Kader, M.M., Makhlouf, S.K., Mohamed, O.S.S. 2013. Effect of some cooking methods on natural antioxidants and their activities in some Brassica vegetables. *World Appl. Sci. J.* 26, 697–703. <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.26.06.13504>
- Schneider, F., Costa, M.B.B. 2013. Diagnóstico socioeconômico , produtivo e ambiental dos agroecossistemas na microbacia hidrográfica do rio Pirapora - município de Piedade / SP. *Revista Bras. Agroecol.* 8, 217–231.
- Volden, J., Borge, G.I.A., Hansen, M., Wicklund, T., Bengtsson, G.B. 2009. Processing (blanching, boiling, steaming) effects on the content of glucosinolates and antioxidant-related parameters in cauliflower (*Brassica oleracea* L. ssp. botrytis). *LWT - Food Sci. Technol.* 42, 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.018>
- Wu, X., Zhao, Y., Haytowitz, D.B., Chen, P., Pehrsson, P.R. 2019. Effects of domestic cooking on flavonoids in broccoli and calculation of retention factors. *Heliyon* 5, e01310. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01310>

CAPÍTULO 2

Bioactive amines screening in four genotypes of thermally processed cauliflower

(artigo publicado no periódico científico Antioxidants)

Marla Silvia Diamante¹, Cristine Vanz Borges¹, Mônica Bartira da Silva², Igor Otavio Minatel¹, Camila Renata Corrêa³, Hector Alonzo Gomez Gomez⁴, Giuseppina Pace Pereira Lima^{1,*}

¹ UNESP. Department of Chemistry and Biochemistry, Institute of Biosciences, São Paulo State University, 18600-970, Botucatu, São Paulo, Brazil; marlasdiamante@gmail.com (M.S.D.); cristine.vanzb@gmail.com (C.V.B.); igorminatel@hotmail.com (I.O.M.)

² UNEMAT – Departamento de Agronomia, Universidade do Estado de Mato Grosso, 78.200-000, Cáceres, Mato Grosso, Brazil; monica.bartira@hotmail.com (M.B.S.)

³ UNESP. School of Medicine, São Paulo State University, 18600-970, Botucatu, São Paulo, Brazil; correa.camila9@gmail.com (C.R.C.).

⁴ UNAG, Department of Food Technology, Universidad Nacional de Agricultura, Barrio El Espino, Catacamas, Honduras; ghectoralonzo@ug.uchile.cl (H.A.G.G.)

* Correspondence: pace.lima@unesp.br, Tel.: +55 1438800573 (G.P.P.L.)

ABSTRACT

Biogenic amines are important indicators of food quality with recognized antioxidant capacity. Diets that are rich in these compounds promote several benefits for human health, although the consumption in excess may result in food poisoning. This study aims to screen the levels of biogenic amines in four colored cauliflowers, before and after cooking (boiling, steaming, and microwaving). In addition, the levels of tryptophan and 5-hydroxytryptophan, two serotonin precursors, were analyzed. Our results reveal that thermal processing shows a tendency to increase tryptophan levels and reduce 5-hydroxytryptophan in colored cauliflowers. A reduction of the tryptophan and increase in serotonin contents in 'Cheddar', steamed or microwaved, was observed. A higher level of histamine was observed in the genotype 'Forata' after cooking, whereas melatonin levels were higher after steaming and microwaving. The lowest levels of biogenic amines and amino acids were observed in 'Graffiti'. All the colored cauliflowers that were analyzed presented a chemical quality index (CQI) below the pre-established limits, indicating that are safe for consumption, even after cooking. We

conclude that the levels of biogenic amines and amino acids in colored cauliflower are safe for human consumption and do not present health risks. Therefore, the consumption of these genotypes, raw or cooked, is a good source of bioactive compounds.

Keywords: *Brassica oleracea* var. *botrytis*; antioxidants; biogenic amines; cooking

2.1 INTRODUCTION

The food consumption is change, and the concern for foods with more nutritional quality is evident. Health behaviors, like eating different vegetables, are associated with diseases prevention and contributing to physical and emotional wellbeing [1]. The protective mechanism by which vegetables protects or improve the human body response to oxidative stress and inflammation include the action of their bioactive compounds [2]. Traditional cauliflower or colored genotypes are a good source of antioxidants that may be interesting to protect against oxidative stress and inflammation processes present in chronic diseases.

Biogenic amines are compounds ubiquitous in all food and may show direct action on the organisms, due to its antioxidant function [3]. In foods, some of the most common biogenic amines are putrescine, cadaverine, spermidine, spermine, histamine, tyramine, tryptamine, and agmatine [4]. However, serotonin and dopamine have been described in fruits and vegetables [5,6], and some amines are a very powerful antioxidant.

The serotonin is widely distributed in the vegetal kingdom [7], and some studies demonstrate that it is a powerful antioxidant and radical scavenger. It also can be used as a biochemical marker in some stages of plant development [8]. In mammals, the serotonin is a neurotransmitter that acts in the central nervous system, affecting appetite, sleep, anxiety and humor [1]. In humans, serotonin is produced from the tryptophan by the action of the tryptophan 5-hydroxylase (EC 1.14.16.4), which converts it in 5-hydroxytryptophan. Then, this compound is decarboxylated by the tryptophan decarboxylase (EC 4.1.1.28), in order to form serotonin [9]. In plants, the synthesis of serotonin occurs mainly by the tryptamine biosynthesis pathway. The tryptophan is initially converted in tryptamine by the action of the tryptophan

decarboxylase (EC 4.1.1.28), and it is converted in serotonin by the action of tryptamine 5-hydroxylase [10,11].

In plants, the tryptophan is related to the growth, due to the formation of auxin, and also due to the formation of such defense substances, as glucosinolates and alkaloids [12,13]. The tryptophan is an amino acid essential for humans and is obtained by the ingestion of eggs, milk, meat, soy, potatoes, broccoli, cauliflowers, eggplant, bananas, among others [14]. Most of tryptophan is converted in signaling molecules of the neuroimmunological processes, and less than 1% is used in the biosynthesis of proteins [1].

As well as serotonin, dopamine is a neurotransmitter related to the sensation of pleasure and satisfaction. Both of them play an important role in neuropsychiatric disturbs, such as depression, schizophrenia, and Parkinson disease, regulating specific paths [1,15]. In plants, dopamine plays an important role in the intracellular regulation of permeability and photophosphorylation, due to its free radical scavenging ability. Dopamine is considered a strong hydrosoluble antioxidant with higher antioxidant capacity than the glutathione, catechin, quercetin and luteolin, with a capacity similar to the antioxidants gallic acid and ascorbic acid [6,16], thus protecting the growth and the productivity of plants under different stress conditions [17].

Melatonin is produced from the serotonin. In mammals, the melatonin acts mainly in the physiological processes related to the regulation of circadian rhythm, humor and sleep [3]. Plants may present a higher quantity of this substance when compared to animals. In plants, the melatonin acts as an antioxidant, affects the vegetal growth, has the function of stabilizing the cellular membrane and regulates the gene expression [9]. In addition, it has been associated with the reproductive development (flowering), including the circadian rhythms (photoperiod) [18] and as a signaling molecule in the mechanism of defense against pathogen and others biotic and abiotic stresses [19].

Other amines, such as putrescine, spermine and spermidine are related to cellular processes, directly involved in the growth, division and cellular differentiation processes [20]. These amines, together with the histamine and cadaverine, are used as a quality parameter of some foods through the CQI (Chemical Quality Index) [21]. Even though do not exert any direct toxic effect, some amines as putrescine, spermidine

and spermine can potentiate the harmful effects of histamine by competing for the detoxifying enzymes and acting as precursors of the nitrosamines [20].

Some brassicas, as the cauliflowers, present different levels of biogenic amines [22,23], are rich in bioactive compounds and present low calories, which contributes to the preference of the consumers for this vegetable. Traditionally, the white genotype is the most consumed however, other colored genotypes, such as the purple, green and orange, can be an option for the consumption. These genotypes are well-established and produced in several countries in the world [24]. Generally, the consumption of this vegetable is performed after the thermal processing, which can affect the content of some bioactives, including the biogenic amines [25]. The cooking facilitates the extraction of some metabolites of vegetal matrix [26,27] however, it can promote losses of nutrients, due to the leaching and cellular destruction [20,25]. The biogenic amines are not considered thermostable [5], and studies demonstrate that the method of cooking and the employed time can affect the levels of these substances promoting an increase or decrease [20,25], depending on the food matrix.

This study demonstrates the effects of the cooking process (boiling, steaming and microwaving) and time in the levels of amino acids (tryptophan and 5-hydroxytryptophan) and biogenic amines of colored cauliflowers.

2.2 MATERIALS AND METHODS

2.2.1 Plant Material

Four colored cauliflowers genotypes 'Forata' (white inflorescence), 'Verde di Macerata' (green inflorescence), 'Cheddar F1' (yellow inflorescence), and 'Graffiti' (purple coloration) were obtained from a local producer and carefully selected to avoid plants with visible damage in the inflorescences.

The florets of each genotype with approximately five centimeters were washed in tap water and immersed in sodium hypochlorite solution (100 mg/L). The raw material was divided into 300 g portions. One part was retained raw and other portions were submitted to the following cooking treatments: Boiling (baking at $\cong 95$ °C in stainless steel pan containing 1000 mL of water), steaming (baking at $\cong 95$ °C using

stainless steel pan containing 800 mL of water) or microwaving (baking at domestic microwave medium power, using glass refractory recipient, containing 100 mL of water and covered with plastic film). Each thermal processing was done by 5 and 10 min, and after that separated into subsamples ($n = 3$), lyophilized (Lyophilizer Terroni Scientific, São Carlos, Brazil, model LD1500), and grounded to a fine powder to storage at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analyzes.

2.2.2 Biogenic Amine Analysis by HPLC

The biogenic amines in florets of colored cauliflowers were extracted as previously reported [28]. Lyophilized samples were homogenized in 3 mL of 5% perchloric acid (HClO_4), held in an ultrasonic bath for 30 min and centrifuged at 6000 rpm for 10 min ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$). In 200 μL of the supernatant were added 400 μL of dansyl chloride (2.5 mg/mL acetone) and 200 μL of the saturated sodium carbonate solution. After stirring and one hour remained in the dark at $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 200 μL of proline (99%) (0.1 mg/mL in ultrapure water) were added. The mixture was maintained at room temperature for 60 min, and toluene (1000 μL) was used to extract the dansylated PAs. The samples were vortexed for 1 min, and the supernatants were withdrawn and subjected to drying with N_2 and resuspended in 1 mL of acetonitrile HPLC (High Performance Liquid Chromatography) grade (assay 99.9%). Then, the mixture was kept in an ultrasonic bath for 1 min and centrifuged for 5 min at 4000 g ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$). The supernatant was filtered (0.22 μm) before injection into a UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography). The chromatographic separation was performed using a Dionex Ultimate 3000 Thermo Scientific system (Thermo Fisher Scientific Inf.; Santa Clara, CA, USA) coupled to a quaternary pump, an automatic sampler (model 3000RS) and a diode arrangement detector (DAD—3000RS). Twenty microliters of sample were injected and the chromatographic data were collected and processed using Chromeleon 7 software (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany), at a flux of 0.7 mL/min, using an Ace 5 C18 (Advanced Chromatography Technologies, Aberdeen, UK) column (4.6 mm x 250 mm, 5 μm particle size) at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. The detection was adjusted to 225 nm, and the peak integration and calibration were performed between 225 and 300 nm. The chromatograph gradient was established to a mixture of solvents (A) 100% acetonitrile and (B) 50% acetonitrile, as follows: 0–2

min, 40% A + 60% B; 2–4 min, 60% A + 40% B; 4–8 min, 65% A + 35% B; 8–12 min, 85% A + 15% B; 12–15 min, 95% A + 5% B; 15–21 min, 85% A + 15% B; 21–22 min, 75% A + 25% B; 22–25 min, 40% A + 60% B. Identification and quantification of amino acids (tryptophan and 5-hydroxytryptophan) and biogenic amines (tryptamine, serotonin, melatonin, dopamine, histamine, cadaverine, putrescine, spermidine and spermine) were based on their retention times, compared to the standards of each compound. The results were expressed as µg/g of dry weight.

2.2.3 Chemical Quality Index - CQI

The CQI was estimated from the biogenic amines related to the food deterioration process [21], using the total concentration (µg/g d.w.) of histamine (cHIM), putrescine (cPUT), cadaverine (cCAD), spermidine (cSPD), and spermine (cSPM), and calculated with the following Equation (1):

$$CQI = \frac{cHIM + cPUT + cCAD}{1 + cSPD + cSPM}$$

2.2.4 Statistical Analysis

All samples were analyzed in triplicate and submitted to a one-way analysis of variance (ANOVA), followed by the Scott-Knott average comparison test ($p < 0.05$). The experimental results were expressed as the mean \pm standard deviation (mean \pm SD). The principal component analysis was carried out using the XLSTAT software version 2017 (Addinsoft, Paris, France).

2.3 RESULTS AND DISCUSSION

In order to establish a descriptive model with the levels of serotonin and melatonin, as well as their precursors tryptophan and 5-hydroxytryptophan, in colored cauliflowers after thermal processing, we opted to use the principal component analysis (PCA) for better visualization of the results. PC1 (principal component 1) and PC2 (principal component 2) explained 70.25% of the data set variance. Both the

precursors (tryptophan and 5-hydroxytryptophan), as well as serotonin and melatonin, occurred in PC1+ (principal component 1, positive quadrant), which represents 48.06% of the total variation data, separating the genotypes and the thermal processes applied (Figure 1).

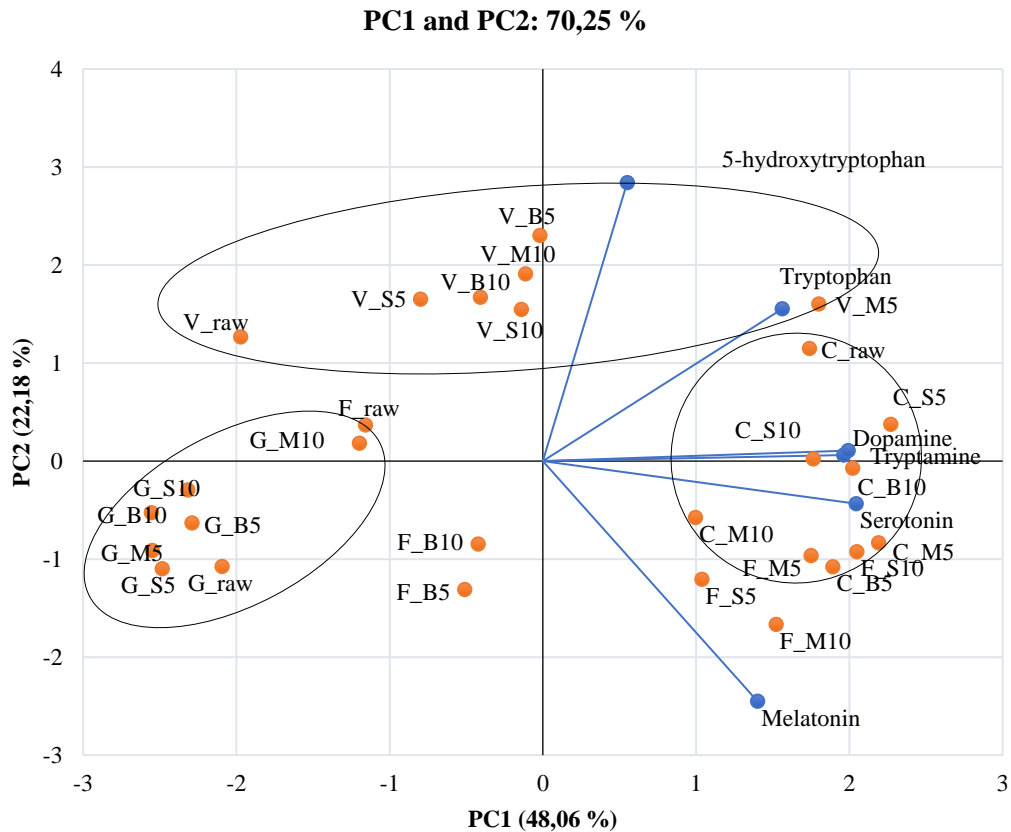


Figure 1. Bi-dimensional projection and scores of the amino acids tryptophan and 5-hydroxytryptophan, and the biogenic amines (serotonin, tryptamine, melatonin and dopamine) in thermally processed colored cauliflowers. The treatments are represented by the points, where initial letters represent the genotypes (V = ‘Verde di Macerata’, G = ‘Graffiti’, F = ‘Forata’ and C = ‘Cheddar’) and the letters after underline represent the cooking methods (raw, B = boiling, S = steam and M = microwave) and the numbers represent the cooking times (5 and 10 min).

‘Cheddar’ raw inflorescences stand out in relation to the levels of tryptophan (337.35 $\mu\text{g/g}$ d.w.), 5-hydroxytryptophan (384.97 $\mu\text{g/g}$ d.w.), tryptamine (9.00 $\mu\text{g/g}$ d.w.), melatonin (5.33 $\mu\text{g/g}$ d.w.) and dopamine (0.42 $\mu\text{g/g}$ d.w.) (Table 1). On the other hand, raw ‘Forata’ inflorescence showed the highest level of serotonin (0.87 $\mu\text{g/g}$ d.w.). The high level of tryptophan and low tryptamine may be attributed to the reduced activity of the enzyme tryptophan decarboxylase (TDC) in the four genotypes of cauliflower (Figure 2), which is able to convert tryptophan into tryptamine. The

preferred pathway of serotonin synthesis in plants is through the hydroxylation of tryptamine, by the enzyme tryptophan 5-hydroxylase (T5H), to produce serotonin [11]. In animals, the serotonin synthesis occurs in a reversed step, with 5-hydroxytryptophan being produced by tryptophan hydroxylase and then being decarboxylated, by aromatic acid decarboxylase, to form serotonin [9]. In our samples, a strong correlation was found between tryptamine and tryptophan ($R^2 = 0.92$) only in the 'Forata' genotype. However, in the other genotypes this correlation was weak ('Verde di Macerata' $R^2 = 0.50$; 'Cheddar' $R^2 = 0.13$; 'Graffiti' $R^2 = 0.20$), evidencing the need for more detailed studies of these pathways in colored cauliflower. It is noteworthy that the considerable amounts of 5-hydroxytryptophan found in colored cauliflowers may be interesting to consumers, once this amino acid is a precursor of serotonin [9].

All the thermal processes promoted increases of tryptophan levels in up to four times in relation to raw in 'Verde di Macerata' (Table 1). In the raw 'Cheddar', which contains high levels of tryptophan ($337.35 \mu\text{g/g d.w.}$), only the boiling induced alterations in the contents of this amino acid in both cooking times, i.e., at 5 ($362.25 \mu\text{g/g d.w.}$) and 10 ($399.40 \mu\text{g/g d.w.}$) min. On the other hand, raw 'Graffiti' contains the lowest levels of tryptophan ($21.29 \mu\text{g/g d.w.}$), and the thermal processing was able to increase the tryptophan content. Tryptophan is a precursor of serotonin and melatonin [13], and it is essential for the formation of auxins [29] and defense compounds [19], such as indole glucosinolates and indole alkaloids in plants [12,13].

As aforementioned, the tryptophan ingestion is essential to maintain normal body composition and function. According to World Health Organization (WHO), the tryptophan requirement range from 9.5 mg/kg per day in children aged 0.5 (years) to 4.0 mg/kg per day in adults (> 18) [30]. Vegetables as potatoes (64.47 mg/kg f.w.), onion (36.47 mg/kg f.w.), broccoli (36.12 mg/kg f.w.), spinach (32 mg/kg f.w.), melon (30.77 mg/kg f.w.), and banana (26.15 mg/kg f.w.) are a good source of tryptophan [23]. Nevertheless, the ingestion of 'Cheddar' or 'Verde di Macerata' inflorescences after cooking for 10 min, either by boiling, steam or microwave, can provide around 40 mg of tryptophan, which together with other foods rich in that amino acid could contribute to obtaining a healthy diet.

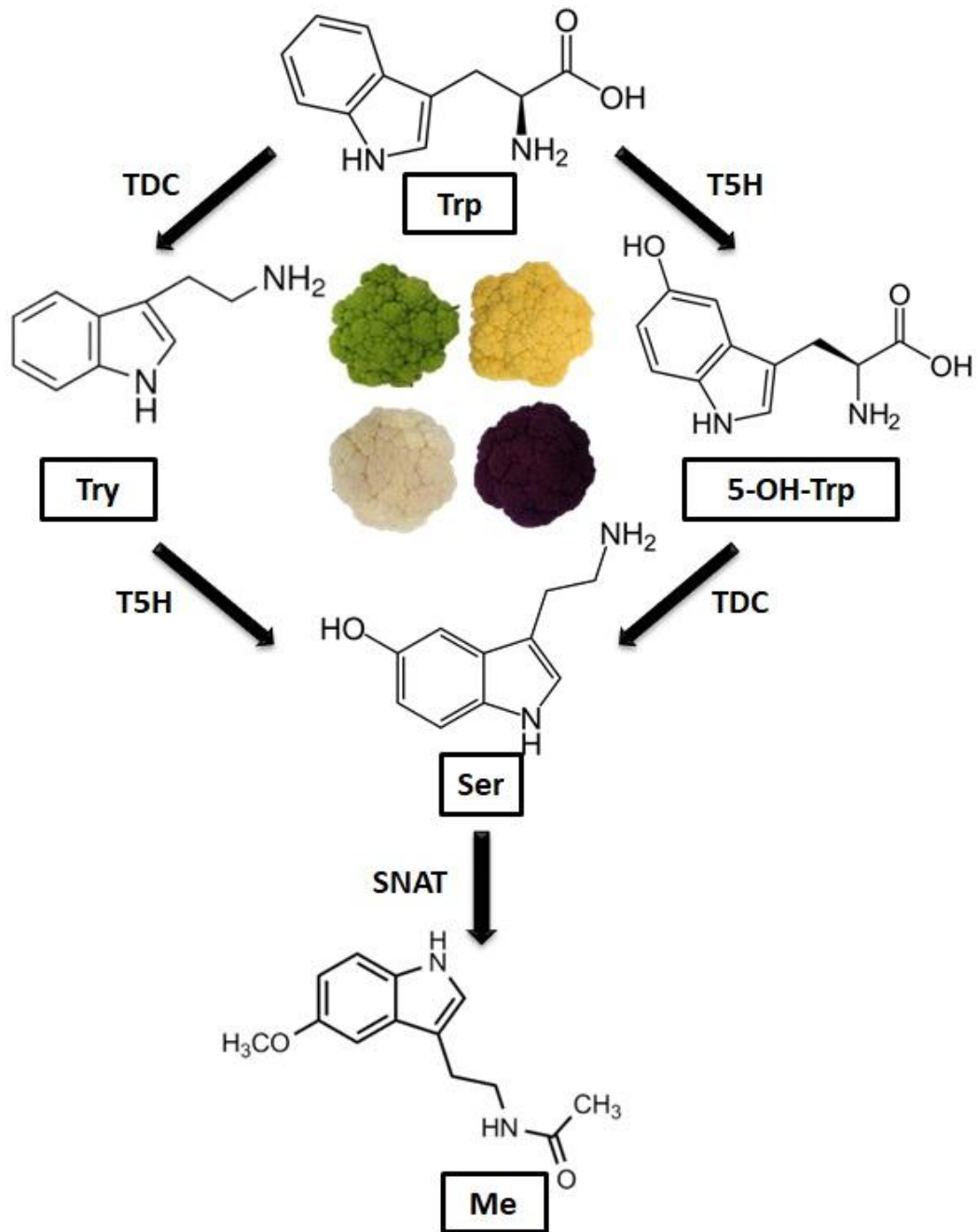


Figure 2. Flowchart evidencing the pathway of serotonin from tryptophan in raw colored cauliflowers. Trp—tryptophan; Try—tryptamine; 5-OH-Trp—5-hydroxytryptophan; Ser—serotonin; Me—melatonin; T5H—tryptophan 5-hydroxylase; TDC—tryptophan decarboxylase; SNAT—serotonin N-acetyltransferase.

Table 1. Amino acids (AA) and biogenic amines content (ug/g d.w.) in colored cauliflowers raw and thermally processed.

Cooking methods	Time (min)	AA		Monoamines			
		Tryptophan	5-hydroxytryptophan	Tryptamine	Serotonin	Melatonin	Dopamine
'Verde di Macerata'							
Boiling	Raw	79.30 ± 4.44 oF ¹	254.39 ± 7.17 bA	5.18 ± 0.04 oE	0.87 ± 0.01 mD	0.40 ± 0.11 kB	0.08 ± 0.00 mD
	5	277.09 ± 13.33 fD	208.74 ± 13.42 cB	11.88 ± 0.17 bA	0.85 ± 0.03 mD	0.31 ± 0.04 kC	0.06 ± 0.01 nE
	10	354.91 ± 10.30 cB	70.05 ± 5.85 hE	8.18 ± 0.17 jC	0.81 ± 0.00 nD	0.31 ± 0.00 kC	0.22 ± 0.01 hB
Steaming	5	250.65 ± 7.18 gE	124.95 ± 1.35 eC	7.66 ± 0.10 kD	1.25 ± 0.04 kC	0.40 ± 0.02 kB	0.11 ± 0.00 iC
	10	302.67 ± 0.88 eC	128.81 ± 0.41 eC	8.53 ± 0.07 iB	1.29 ± 0.00 kC	0.59 ± 0.17 jA	0.08 ± 0.01 mD
Microwave	5	238.71 ± 0.64 hE	90.93 ± 1.26 fD	7.43 ± 0.01 iD	3.45 ± 0.14 cA	0.17 ± 0.03 kC	0.35 ± 0.00 cA
	10	432.37 ± 13.12 aA	136.40 ± 4.85 dC	8.69 ± 0.20 hB	1.41 ± 0.04 jB	0.50 ± 0.03 jA	0.03 ± 0.00 qF
'Cheddar'							
Boiling	Raw	337.35 ± 9.88 dC	384.97 ± 5.84 aA	9.00 ± 0.22 gD	1.00 ± 0.02 iF	5.33 ± 0.01 eC	0.42 ± 0.00 aA
	5	362.25 ± 2.60 cB	36.76 ± 1.23 iE	9.79 ± 0.05 fC	2.40 ± 0.01 hE	6.78 ± 0.08 dB	0.35 ± 0.01 bB
	10	399.40 ± 14.07 bA	45.93 ± 3.02 kD	11.53 ± 0.49 cB	2.71 ± 0.10 gD	4.29 ± 0.43 gD	0.24 ± 0.01 fD
Steaming	5	244.80 ± 5.28 hE	71.42 ± 2.54 hB	13.90 ± 0.34 aA	3.34 ± 0.09 dC	4.20 ± 0.13 gD	0.34 ± 0.01 dC
	10	301.35 ± 4.48 eD	70.39 ± 0.09 hB	8.74 ± 0.09 hD	3.70 ± 0.02 bB	5.21 ± 0.01 eC	0.22 ± 0.00 hE
Microwave	5	207.22 ± 2.26 iF	57.03 ± 3.55 iC	11.40 ± 0.16 cB	3.68 ± 0.14 bB	8.25 ± 0.16 cA	0.34 ± 0.01 dC
	10	211.49 ± 10.28 iF	55.90 ± 0.06 iC	8.63 ± 0.34 hD	4.26 ± 0.14 aA	4.48 ± 0.26 gD	0.13 ± 0.01 kF
'Forata'							
Boiling	Raw	36.53 ± 0.56 pF	203.25 ± 0.72 cA	4.69 ± 0.03 pE	2.03 ± 0.02 hC	0.97 ± 0.05 iE	0.12 ± 0.01 kD
	5	167.97 ± 3.42 iE	45.50 ± 0.56 kE	8.60 ± 0.15 hD	1.86 ± 0.05 iD	4.79 ± 0.32 fC	0.07 ± 0.00 mE
	10	184.81 ± 2.83 kD	45.81 ± 1.30 kE	8.84 ± 0.11 gC	1.81 ± 0.10 iD	4.28 ± 0.02 gD	0.05 ± 0.00 oF
Steaming	5	169.47 ± 1.58 iE	66.83 ± 0.81 hB	10.26 ± 0.10 eB	2.83 ± 0.02 gB	9.34 ± 0.26 aA	0.13 ± 0.00 kD
	10	256.65 ± 2.21 gA	49.66 ± 1.71 jD	10.89 ± 0.16 dA	2.79 ± 0.02 gB	9.02 ± 0.04 bA	0.28 ± 0.01 eA
Microwave	5	216.63 ± 2.37 iC	52.68 ± 1.37 jC	10.40 ± 0.02 eB	3.04 ± 0.06 eA	8.39 ± 0.00 cB	0.23 ± 0.00 gB
	10	235.09 ± 1.22 hB	42.50 ± 0.63 kF	10.48 ± 0.07 eE	2.91 ± 0.04 fB	9.25 ± 0.11 aA	0.15 ± 0.00 jC

Continued table 1

		'Graffiti'					
	Raw	21.29 ± 0.06 qG	42.90 ± 0.42 kC	5.46 ± 0.01 nG	0.45 ± 0.00 oB	1.06 ± 0.12 iB	0.18 ± 0.00 iA
Boiling	5	175.98 ± 0.29 kB	27.78 ± 2.10 mE	7.72 ± 0.16 kC	0.75 ± 0.06 nA	0.49 ± 0.04 jD	0.04 ± 0.00 pC
	10	193.56 ± 2.86 jA	27.57 ± 0.17 mE	6.28 ± 0.04 mF	0.70 ± 0.02 nA	0.46 ± 0.09 jD	0.05 ± 0.00 oB
Steaming	5	87.45 ± 0.33 oF	42.33 ± 0.13 kC	7.55 ± 0.03 kD	0.81 ± 0.09 nA	0.94 ± 0.04 iB	0.02 ± 0.00 rD
	10	159.22 ± 2.02 mD	50.49 ± 1.97 jB	7.24 ± 0.06 IE	0.80 ± 0.01 nA	0.90 ± 0.02 iB	0.02 ± 0.00 rC
Microwave	5	147.81 ± 0.59 nE	37.11 ± 1.65 ID	8.48 ± 0.08 iB	0.73 ± 0.00 nA	0.68 ± 0.03 jC	0.02 ± 0.00 rD
	10	165.08 ± 0.42 IC	77.13 ± 0.11 gA	10.37 ± 0.02 eA	0.77 ± 0.01 nA	1.63 ± 0.26 hA	0.02 ± 0.00 rD

¹Results are expressed as mean ± standard deviation (n = 3). The averages followed by the same lowercase letter (all treatments) and uppercase letter (genotypes) do not differ statistically from each other. The Scott-Knott's test was applied at the 5% probability level.

5-hydroxytryptophan and tryptamine levels were altered in the colored cauliflower after cooking. The highest levels of 5-hydroxytryptophan were noticed in raw inflorescences of 'Cheddar' (384.97 $\mu\text{g/g}$ d.w.) and 'Verde di Macerata' (254.39 $\mu\text{g/g}$ d.w.) and the cooking induced a decrease in the content. 'Graffiti' inflorescence (raw = 42.90 $\mu\text{g/g}$ d.w.) after cooking for 10 min showed an increase in the levels, either by steam (50.49 $\mu\text{g/g}$ d.w.) or microwave (77.13 $\mu\text{g/g}$ d.w.) (Table 1). The levels of tryptamine decrease in 'Cheddar' after thermal processing. The raw 'Cheddar' cauliflower presented higher tryptamine content (9.00 $\mu\text{g/g}$ d.w.) in relation to the other raw genotypes and in addition, all the cooking methods for 5 min induced an increase in the levels of this compound.

The intake of tryptophan and 5-hydroxytryptophan is essential for the formation of serotonin in the brain because this neurotransmitter does not cross the blood-brain barrier and the synthesis and turnover of serotonin depends on the ingestion of those compounds [13]. Thus, foods containing higher levels of tryptophan and 5-hydroxytryptophan may help balance serotonin levels, a powerful antioxidant molecule. Cauliflowers are usually consumed after cooking, and in our study, the consumption of these cooked vegetables (steamed or microwaved) can be beneficial, since these processing methods do not allow the loss of these compounds to the cooking water.

Steaming or microwaving increased the serotonin content in colored cauliflowers, with special highlight to 'Verde di Macerata' and 'Forata' cooked for 5 min (3.45 and 3.04 $\mu\text{g/g}$ d.w., respectively). Interesting results were observed in the 'Cheddar' cauliflower microwaved for 10 min, which showed an increase of 76.53% in relation to the raw inflorescence. The serotonin results of 'Graffiti' do not show a significant difference after the thermal processing; however, presented the lower serotonin levels in relation to the other genotypes. Decreased levels of serotonin after thermal processing of fruits has been reported recently [5]. Nevertheless, in our study, the increased level of bioactive amines, as well as their precursors, may be resulted from food matrix disruption induced by the cooking process [25]. The thermal processes to which inflorescences were submitted probably facilitated the extraction of some amines (tryptamine, serotonin, melatonin, putrescine, spermidine, spermine and histamine) and their levels may be dependent on the molecule polarity, the matrix, the genotype and the cooking method [25].

Comparing the colored cauliflowers, 'Cheddar' presented the highest levels of dopamine (Table 1) and was grouped into PC1+ (Figure 1). In this genotype, none of

the thermal processes increased in dopamine levels (Table 1). On the other hand, 'Verde di Macerata' microwaved for 5 min showed the highest dopamine content, whereas the boiling of 'Forata' inflorescence, independent of the cooking time, promoted losses of this biogenic amine. Dopamine is considered a strong antioxidant when compared to other hydrophilic molecules, such as vitamin C and certain phenolic compounds when measured by DPPH [31]. This antioxidant activity is attributed to the o-dihydroxylated structure, and its amino acid residue increases the hydrophilic character [32]. Some amines are usually reported as quality markers of food storage, processing or degradation, especially tyramine, histamine, cadaverine and putrescine. In this study, tyramine levels were below the detection limit in all cauliflower genotypes. In order to compare the levels of histamine, cadaverine and putrescine, beyond spermidine and spermine in raw and cooked colored cauliflowers, we used the principal component analysis to visualize the results better (Figure 3). PC1 and PC2 explain 89.12% of the data, separating the genotypes and cooking methods used. All analyzed amines were grouped in PC1+, which explains 61.03% of the data.

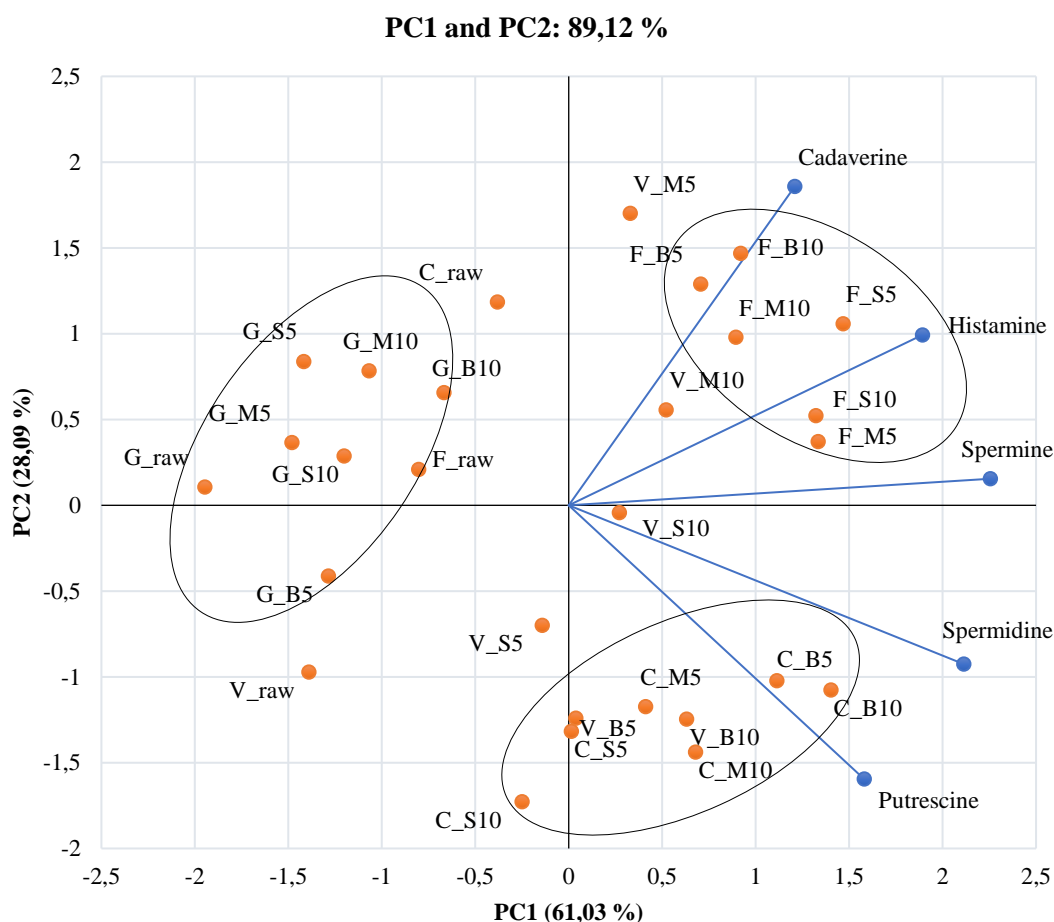


Figure 3. Bi-dimensional projection and biogenic amine scores (cadaverine, histamine, spermidine, spermine and putrescine) in thermally processed colored cauliflowers. The treatments are represented by the points, where initial letters represent the genotypes (V = 'Verde di Macerata', G = 'Graffiti', F = 'Forata' and C = 'Cheddar') and the letters after underline represent the cooking methods (raw, B = boiling, S = steam and M = microwave) and the numbers represent cooking times (5 and 10 min).

Before thermal processing, the higher histamine content was observed in 'Cheddar', but this result changed after the cooking. Histamine was found in all genotypes, and the highest levels occurred in 'Forata' (Table 2), which was grouped in PC1+ (Figure 3), mainly after boiling for 10 min (0.71 $\mu\text{g/g}$ d.w.). It should be pointed out that the levels of histamine in colored inflorescences are not considered to be harmful to health. Historically the illness caused by histamine has been known as "scombroid poisoning" because the high levels of histamine found in fish of the Scombridae and Scomberesocidae families. The United States Food and Drug Administration has recommended the limits of histamine consumption to 50 mg/kg of body weight [33]. However, in most cases, histamine levels necessary to cause food poisoning range from 200 ppm to 500 ppm [33]. In addition to histamine and tyramine,

which are considered relevant for food safety, putrescine and cadaverine may potentiate the effect of histamine, by inhibiting histamine detoxifying enzymes [34]. In this study we noticed in 'Forata' and 'Cheddar', a strong correlation between histamine and cadaverine ($R^2 = 0.72$ and $R^2 = 0.91$, respectively). The highest levels of cadaverine were verified in 'Cheddar', which may explain the strong correlation found. However, thermal processing was beneficial, promoting a decrease in the content of this amine (Table 2). High levels of putrescine and cadaverine in food may indicate low quality, which makes it unsuitable for the consumption; so they are considered indicators or markers for the decomposition of unfermented foods [35].

Table 2. Monoamine, diamines, polyamines ($\mu\text{g/g}$ d.w.) and CQI in colored cauliflowers raw and thermally processed.

Cooking methods	Time (min)	Monoamine	Diamines		Polyamines		CQI
		Histamine	Cadaverine	Putrescine	Spermidine	Spermine	
'Verde di Macerata'							
	Raw	0.06 \pm 0.00 kE ¹	0.03 \pm 0.00 nF	3.58 \pm 0.05 iE	1.84 \pm 0.04 nG	0.29 \pm 0.02 pE	1.17 \pm 0.03
Boiling	5	0.10 \pm 0.00 jD	0.08 \pm 0.03 kE	5.87 \pm 0.10 fC	14.86 \pm 0.31 gB	1.83 \pm 0.02 jB	0.34 \pm 0.00
	10	0.12 \pm 0.00 jD	0.10 \pm 0.01 jE	7.68 \pm 0.06 dA	21.38 \pm 0.22 cA	3.08 \pm 0.03 iA	0.31 \pm 0.00
Steaming	5	0.11 \pm 0.01 jD	0.12 \pm 0.01 iD	6.24 \pm 0.07 eB	13.29 \pm 0.17 iD	1.37 \pm 0.02 iD	0.41 \pm 0.00
	10	0.21 \pm 0.02 iC	0.18 \pm 0.01 gC	4.49 \pm 0.03 gD	13.66 \pm 0.09 iC	1.68 \pm 0.01 kC	0.30 \pm 0.00
Microwave	5	0.56 \pm 0.01 cA	0.39 \pm 0.02 bA	1.45 \pm 0.03 iF	9.74 \pm 0.01 kF	1.81 \pm 0.01 jB	0.19 \pm 0.00
	10	0.37 \pm 0.02 gB	0.31 \pm 0.01 cB	5.95 \pm 0.13 fC	11.54 \pm 0.26 jE	1.69 \pm 0.04 kC	0.47 \pm 0.00
'Cheddar'							
	Raw	0.46 \pm 0.02 eA	0.27 \pm 0.02 dA	2.04 \pm 0.03 kD	3.50 \pm 0.02 mF	0.35 \pm 0.02 pF	0.57 \pm 0.01
Boiling	5	0.41 \pm 0.01 fB	0.09 \pm 0.00 kC	7.71 \pm 0.06 dC	27.70 \pm 0.13 bB	4.15 \pm 0.00 fB	0.25 \pm 0.00
	10	0.48 \pm 0.05 eA	0.10 \pm 0.01 nB	12.04 \pm 0.48 aA	37.44 \pm 1.45 aA	5.29 \pm 0.17 eA	0.29 \pm 0.00
Steaming	5	0.22 \pm 0.02 iD	0.03 \pm 0.00 nE	7.56 \pm 0.20 dC	13.54 \pm 0.33 iD	1.37 \pm 0.03 iD	0.49 \pm 0.00
	10	0.20 \pm 0.01 iD	0.02 \pm 0.00 nE	8.90 \pm 0.10 bB	11.74 \pm 0.13 jE	0.77 \pm 0.01 nE	0.68 \pm 0.00
Microwave	5	0.27 \pm 0.01 hC	0.07 \pm 0.00 iD	8.08 \pm 0.13 cC	14.08 \pm 0.28 hD	1.42 \pm 0.02 iD	0.51 \pm 0.00
	10	0.27 \pm 0.05 hC	0.07 \pm 0.00 iD	8.96 \pm 0.42 bB	16.87 \pm 0.55 fC	1.89 \pm 0.05 jC	0.47 \pm 0.00
'Forata'							
	Raw	0.04 \pm 0.00 kD	0.20 \pm 0.00 fE	3.22 \pm 0.02 jF	4.60 \pm 0.05 iG	0.85 \pm 0.01 nG	0.54 \pm 0.00
Boiling	5	0.60 \pm 0.06 bB	0.28 \pm 0.02 dC	3.37 \pm 0.07 jD	10.29 \pm 0.17 kE	4.04 \pm 0.06 gE	0.28 \pm 0.00
	10	0.71 \pm 0.01 aA	0.45 \pm 0.02 aA	4.24 \pm 0.02 hB	10.02 \pm 0.09 kF	3.87 \pm 0.03 hF	0.36 \pm 0.00
Steaming	5	0.65 \pm 0.04 bA	0.32 \pm 0.00 cB	3.48 \pm 0.05 iC	20.58 \pm 0.20 dA	7.60 \pm 0.08 bB	0.15 \pm 0.00
	10	0.60 \pm 0.06 bB	0.24 \pm 0.00 eD	4.16 \pm 0.04 hB	19.11 \pm 0.24 eB	8.17 \pm 0.11 aA	0.18 \pm 0.00
Microwave	5	0.62 \pm 0.03 bB	0.21 \pm 0.00 fE	4.64 \pm 0.06 gA	18.73 \pm 0.04 eC	6.98 \pm 0.01 cC	0.20 \pm 0.00
	10	0.52 \pm 0.03 dC	0.27 \pm 0.01 dC	3.32 \pm 0.01 jE	14.02 \pm 0.08 hD	5.80 \pm 0.03 dD	0.20 \pm 0.00

Continued table 2

		'Graffiti'					
	Raw	0.09 ± 0.00 kC	0.05 ± 0.00 mD	0.34 ± 0.01 nF	0.52 ± 0.00 pD	0.13 ± 0.01 qE	0.29 ± 0.00
Boiling	5	0.11 ± 0.01 jB	0.03 ± 0.01 nE	0.96 ± 0.01 mB	1.46 ± 0.01 oB	0.82 ± 0.02 nB	0.34 ± 0.01
	10	0.13 ± 0.01 jA	0.16 ± 0.02 hA	1.38 ± 0.02 IA	1.91 ± 0.25 nA	1.10 ± 0.03 mA	0.42 ± 0.02
Steaming	5	0.12 ± 0.00 jA	0.10 ± 0.00 jB	0.71 ± 0.01 mE	0.63 ± 0.05 pD	0.33 ± 0.02 pD	0.48 ± 0.01
	10	0.13 ± 0.00 jA	0.05 ± 0.00 mD	0.78 ± 0.01 mD	1.36 ± 0.02 oB	0.56 ± 0.00 oC	0.33 ± 0.00
Microwave	5	0.11 ± 0.00 jB	0.09 ± 0.00 kC	0.81 ± 0.01 mC	0.68 ± 0.02 pD	0.32 ± 0.02 pD	0.51 ± 0.00
	10	0.13 ± 0.01 jA	0.11 ± 0.01 jB	0.83 ± 0.00 mC	1.20 ± 0.00 oC	0.55 ± 0.00 oC	0.39 ± 0.01

¹Results are expressed as mean ± standard deviation (n = 3). The averages followed by the same lowercase letter all treatments) and uppercase letter (genotypes) do not differ statistically from each other. The Scott-Knott's test was applied at the 5% probability level.

The levels of cadaverine increased when 'Forata', 'Verde di Macerata' and 'Graffiti' cauliflowers were cooked, and the highest content was observed in 'Forata' boiled for 10 min (0.45 µg/g d.w.). The cooking process also induced increases in putrescine levels (PC1+) (Figure 3), mainly in 'Cheddar', reaching 12.04 µg/g d.w. after boiling for 10 min (Table 2). There was a poor correlation, either positive or negative, between putrescine and cadaverine levels in all genotypes ('Verde de Macerata', $R^2 = -0.11$; 'Cheddar', $R^2 = -0.20$; 'Forata', $R^2 = 0.21$ and 'Graffiti', $R^2 = 0.29$). Regarding cauliflower food safety, the putrescine and cadaverine levels are not considered to be harmful to health. For both, the level becomes toxic when the dose consumed is higher than 2000 mg/kg body weight [36]. Thus, to promote a negative effect on consumers would be necessary to ingest 1.7 kg of boiled 'Cheddar' inflorescences, where the highest levels of putrescine and cadaverine were found.

The spermidine and spermine levels (Table 2) increased considerably after the thermal processing in all genotypes. Both polyamines were grouped into PC1+. The lowest levels of all amines analyzed were observed in 'Graffiti' (Figure 3) and they were grouped in PC1-. The boiling for 10 min was the cooking method that promoted the highest levels of spermine and spermidine in 'Verde di Macerata' and 'Cheddar'. In both cooking methods, steam or microwave, 'Forata' showed higher spermidine and spermine content.

In addition to the positive effects already described, some biogenic amines may form nitrosamines, molecules related to cancer and mutagenic activity [37]. Spermidine and spermine are considered growth regulators, involved in the growth processes, intracellular signaling, cell division and differentiation [20], besides they play a role in protecting cells from free radicals' action [38]. The spermidine contents were higher than those detected for spermine in all colored cauliflowers and the level considered toxic of both polyamines is 600 mg/kg of weight [39]. In our study, the intake of 100 g of boiled 'Cheddar' for 10 min, provide the ingestion of spermidine (3.74 mg/100 g d.w.) and spermine (0.53 mg/100 g d.w.) in levels considered not harmful to health. However, due to the action in cell division, is recommended that foods with higher levels of these amines (spermidine and spermine) should be avoided in patients in the treatment of certain neoplasm [40]. Interesting results were found in 'Graffiti', which showed the lowest levels of spermidine and spermine, and could be considered safe for individuals with diet restriction of biogenic amines. On the other hand, a recent study has shown that high spermidine intake is related to increased survival in humans

[41]. According to our results, the levels of biogenic amines are depending on the genotype and the thermal processing, including the cooking time. Among the amines analyzed, some stand out, such as histamine, putrescine and cadaverine, which are used as markers of food contamination by microorganisms [34]. There are certain controversies in the literature about the thermal stability of biogenic amines [5,42]. This behavior was observed in the samples analyzed, with a remarkable increasing tendency in these molecules after thermal processing.

The CQI was calculated to verify food safety when cauliflowers are ingested raw or after cooking. This index is usually used for fishery products and consider values above 10 as indicators of food quality losses [21]. The highest CQI was observed in the genotype 'Verde di Macerata' without thermal processing; however, this value (1.17) is almost nine times lower than the maximum limit acceptable for consumption. In the meanwhile, all the other samples, raw or cooked, had CQI below the levels considered toxic for human consumption (Table 2). The CQI of biogenic amines may be a good tool to verify the quality and safety of vegetable consumption, especially after cooking, since thermal processing has a direct effect on these bioactive compounds.

2.4 CONCLUSIONS

The cooking methods employed in this study resulted in different responses on the content of biogenic amines and amino acids, such as tryptophan and 5-hydroxytryptophan. After thermal processing, the levels of tryptophan were variable with a tendency to increase. Reduced levels of 5-hydroxytryptophan and increasing in serotonin were observed, especially after steaming and microwaving. 'Forata' showed the higher content of histamine after cooking, regardless of cooking method or time of processing; however, the quantities found are within the tolerable level of consumption and are not considered to be harmful to health. 'Forata' also show the higher melatonin content when steamed and microwaved in comparison to the other ones, which makes it a good source of this biogenic amine. The 'Graffiti' inflorescence presented the lowest levels of all bioactive amines, compared to the others cauliflowers studied, indicating that this genotype can be used in the diet of patients with some restriction to biogenic amines. All colored cauliflowers analyzed presented CQI below the pre-established

limits, and did not represent a risk for consumers. The consumption of cauliflower steamed or microwaved, regardless of the preparation time (5 or 10 min), may be beneficial to human health and a good source of antioxidants (bioactive amines - melatonin, serotonin, dopamine, spermidine, and spermine).

Author Contributions: M.S.D. and G.P.P.L. contributed to conceptualization, investigation, data curation, and writing the original draft. G.P.P.L. contributed to supervision, investigation, reviewing, editing, project administration and funding acquisition. C.V.B. contributed to investigation, methodology, writing, and editing of the original draft. M.B.d.S. and H.A.G.G. contributed to the investigation and data curation. I.O.M. contributed to data curation, investigation, methodology, writing, reviewing and editing of the original draft. C.R.C. contribute to data curation, methodology, writing review and editing.

Funding: This research was funded by São Paulo Research Foundation (FAPESP - Brazil) (grants 2016/22665-2) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (305177/2015-0).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Strasser, B.; Gostner, J.M.; Fuchs, D. Mood, food, and cognition: Role of tryptophan and serotonin. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2016**, *19*, 55–61.
2. Alissa, E.M.; Ferns, G.A. Dietary fruits and vegetables and cardiovascular diseases risk. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2017**, *57*, 1950–1962.
3. Vriend, J.; Reiter, R.J. The Keap1-Nrf2-antioxidant response element pathway: A review of its regulation by melatonin and the proteasome. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2015**, *401*, 213–220.
4. Naila, A.; Flint, S.; Fletcher, G.; Bremer, P.; Meerdink, G. Control of biogenic amines in food-existing and emerging approaches. *J. Food Sci.* **2010**, *75*, R139–R150.
5. Płonka, J.; Michalski, A. The influence of processing technique on the catecholamine and indolamine contents of fruits. *J. Food Compos. Anal.* **2017**, *57*, 102–108.
6. Borges, C. V., Belin, M. A. F, Amorim, E. P., Minatel, I. O., Monteiro, G. C., Gomes, H. A. G., Monar, G. R. S., Lima, G.P.P. Bioactive amines changes during the ripening and thermal processes of bananas and plantains. *Food Chem.*

- 2019**, 298, 125020.
7. Pelagio-Flores, R.; Ortíz-Castro, R.; Méndez-Bravo, A.; Macías-Rodríguez, L.; López-Bucio, J. Serotonin, a tryptophan-derived signal conserved in plants and animals, regulates root system architecture probably acting as a natural auxin inhibitor in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* **2011**, *52*, 490–508.
 8. Erland, L.A.E.; Turi, C.E.; Saxena, P.K. Serotonin: An ancient molecule and an important regulator of plant processes. *Biotechnol. Adv.* **2016**, *34*, 1347–1361.
 9. Nawaz, M.A.; Huang, Y.; Bie, Z.; Ahmed, W.; Reiter, R.J.; Niu, M.; Hameed, S. Corrigendum: melatonin: current status and future perspectives in plant science. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 1–2.
 10. Kang, S.; Kang, K.; Lee, K.; Back, K. Characterization of rice tryptophan decarboxylases and their direct involvement in serotonin biosynthesis in transgenic rice. *Planta* **2007**, *227*, 263–272.
 11. Park, S.; Lee, K.; Kim, Y.S.; Back, K. Tryptamine 5-hydroxylase-deficient Sekiguchi rice induces synthesis of 5-hydroxytryptophan and N-acetyltryptamine but decreases melatonin biosynthesis during senescence process of detached leaves. *J. Pineal Res.* **2012**, *52*, 211–216.
 12. Normanly, J. Approaching cellular and molecular resolution of auxin biosynthesis and metabolism. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2010**, *2*, a001594.
 13. Palego, L.; Betti, L.; Rossi, A.; Giannaccini, G. Tryptophan biochemistry: Structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in humans. *J. Amino Acids* **2016**, *2016*, 1–13.
 14. Keszthelyi, D.; Troost, F.J.; Masclee, A.A.M. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterol. Motil.* **2009**, *21*, 1239–1249.
 15. Gomez-Gomez, H.A.; Borges, C.V.; Minatel, I.O.; Luvizon, A.C.; Lima, G.P.P. Health benefits of dietary phenolic compounds and biogenic amines. In *Bioactive Molecules in Food*, 1st ed.; Mérillon, J.-M., Ramawat, K.G., Eds.; Springer Nature; Switzerland, **2018**; pp. 1–25.
 16. Kulma, A.; Szopa, J. Catecholamines are active compounds in plants. *Plant Sci.* **2007**, *172*, 433–440.
 17. Liang, B.; Li, C.; Ma, C.; Wei, Z.; Wang, Q.; Huang, D.; Chen, Q.; Li, C.; Ma, F. Dopamine alleviates nutrient deficiency-induced stress in *Malus hupehensis*. *Plant Physiol. Biochem.* **2017**, *119*, 346–359.
 18. Arnao, M. B., Hernández-Ruiz, J. The physiological function of melatonin in plants. *Plant Signal. Behav.* **2006**, 89–95.
 19. Back, K.; Tan, D.X.; Reiter, R.J. Melatonin biosynthesis in plants: multiple pathways catalyze tryptophan to melatonin in the cytoplasm or chloroplasts. *J. Pineal Res.* **2016**, *61*, 426–437.
 20. Preti, R.; Rapa, M.; Vinci, G. Effect of steaming and boiling on the antioxidant properties and biogenic amines content in green bean (*Phaseolus vulgaris*) varieties of different colours. *J. Food Qual.* **2017**, *2017*, 1–8.
 21. Mietz, J.L.; Karmas, E. Chemical quality index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatography. *J. Food Sci.* **1977**, *42*, 155–158.
 22. Badria, F.A. Melatonin, serotonin, and tryptamine in some Egyptian food and medicinal plants. *J. Med. Food* **2002**, *5*, 153–157.
 23. Islam, J.; Shirakawa, H.; Nguyen, T.K.; Aso, H.; Komai, M. Simultaneous analysis of serotonin, tryptophan and tryptamine levels in common fresh fruits and vegetables in Japan using fluorescence HPLC. *Food Biosci.* **2016**, *13*, 56–59.

24. Kalisz, A.; Sękara, A.; Smoleń, S.; Grabowska, A.; Gil, J.; Cebula, S. Mineral composition of cauliflowers with differently coloured curds modified by the chilling of juvenile plants. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. **2018**, *232*, 216–225.
25. Lima, G.P.P.; Costa, S.M.; Monaco, K. de A.; Uliana, M.R.; Fernandez, R.M.; Correa, C.R.; Vianello, F.; Cisneros-Zevallos, L.; Minatel, I.O. Cooking processes increase bioactive compounds in organic and conventional green beans. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2017**, *7486*, 1–12.
26. Palermo, M.; Pellegrini, N.; Fogliano, V. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. *J. Sci. Food Agric.* **2014**, *94*, 1057–1070.
27. Borges, C. V.; Minatel, I.O.; Amorim, E.P.; Belin, M.A.F.; Gomez-Gomez, H.A.; Correa, C.R.; Lima, G.P.P. Ripening and cooking processes influence the carotenoid content in bananas and plantains (*Musa* spp.). *Food Res. Int.* **2018**, 0–1.
28. Lima, G.P.P.; da Rocha, S.A.; Takaki, M.; Ramos, P.R.R.; Ono, E.O. Comparison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and organic methods. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2008**, *43*, 1838–1843.
29. Tao, Y.; Ferrer, J.L.; Ljung, K.; Pojer, F.; Hong, F.; Long, J.A.; Li, L.; Moreno, J.E.; Bowman, M.E.; Ivans, L.J.; et al. Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell* **2008**, *133*, 164–176.
30. WHO (World Health Organization). Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation, WHO technical report series; 935, 2002. Available online: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43411>. (accessed on 29 July 2019).
31. González-Montelongo, R.; Gloria Lobo, M.; González, M. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chem.* **2010**, *119*, 1030–1039.
32. Kanazawa, K.; Sakakibara, H. High content of dopamine, a strong antioxidant, in cavendish banana. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 844–848.
33. FDA (Food and Drug Administration). Fish and fishery products hazards and controls guidance. U.S. Department of Health and Human Services. Available online: <https://www.fda.gov/media/80637/download>. (accessed on 29 July 2019).
34. Papageorgiou, M.; Lambropoulou, D.; Morrison, C.; Kłodzińska, E.; Namieśnik, J.; Płotka-Wasyłka, J. Literature update of analytical methods for biogenic amines determination in food and beverages. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2018**, *98*, 128–142.
35. Karovicová, J., Kohajdová, Z. Biogenic amines in foods. *Chem. Pap.* **2005**, *59*, 70–79.
36. Ruiz-Capillas, C.; Herrero, A. Impact of biogenic amines on food quality and safety. *Foods* **2019**, *8*, 62.
37. Saaid, M.; Saad, B.; Rahman, I.A.; Ali, A.S.M.; Saleh, M.I. Extraction of biogenic amines using sorbent materials containing immobilized crown ethers. *Talanta* **2010**, *80*, 1183–1190.
38. Rider, J.E.; Hacker, A.; Mackintosh, C.A.; Pegg, A.E.; Woster, P.M.; Jr, R.A.C. Spermine and spermidine mediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids* **2007**, *33*, 231–240.
39. Kaláč, P.; Krausová, P. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chem.* **2005**, *90*, 219–230.

40. Cipolla, B.G.; Havouis, R.; Moulinoux, J.P. Polyamine contents in current foods: A basis for polyamine reduced diet and a study of its long term observance and tolerance in prostate carcinoma patients. *Amino Acids* **2007**, *33*, 203–212.
41. Kiechl, S.; Pechlaner, R.; Willeit, P.; Notdurfter, M.; Paulweber, B.; Willeit, K.; Werner, P.; Ruckenstein, C.; Iglseder, B.; Weger, S.; et al. Higher spermidine intake is linked to lower mortality: A prospective population-based study. *Am. J. Clin. Nutr.* **2018**, *108*, 371–380.
42. Magwamba, C.; Matsheka, M.I.; Mpuchane, S.; Gashe, B.A. Detection and Quantification of Biogenic Amines in Fermented Food Products Sold in Botswana. *J. Food Prot.* **2010**, *73*, 1703–1708.

CAPÍTULO 3

Efeito do cozimento doméstico no perfil de carotenoides em couves-flores coloridas

RESUMO

Além do aspecto visual dos vegetais, os consumidores buscam alimentos com elevada qualidade nutricional, ricos em compostos bioativos. Couves-flores são geralmente associadas a dietas saudáveis devido ao seu impacto positivo na saúde humana. Mutações genéticas em couves-flores têm evidenciado o acúmulo de alguns compostos antioxidantes lipossolúveis, como os carotenoides e tocoferóis. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos do cozimento (ebulição, vapor e micro-ondas) em diferentes tempos de preparo, no conteúdo de carotenoides, α e γ -tocoferol em couves-flores coloridas, bem como os provitamicos A (pVACs), o equivalente de atividade de retinol (RAE), e verificar o efeito do cozimento na manutenção da coloração das inflorescências. Os resultados revelam que o processamento térmico promove aumento nos teores dos compostos antioxidantes analisados no presente trabalho (carotenoides e pVACs), independente do genótipo, quando comparados com o material cru alterou níveis de tocoferol e os atributos de cor da hortaliça. Os maiores teores de zeaxantina e luteína foram verificados na 'Verde di Macerata', principalmente após o processamento térmico em ebulição por 5 e 20 minutos. A couve-flor 'Cheddar' apresentou os maiores conteúdos de todos os carotenoides, e quando cozidas em vapor por 20 minutos observou-se o maior teor de pVAC e RAE. Incrementos no conteúdo de pVAC, RAE e Σ carotenoides foram observados em 'Forata' e 'Graffiti'. Independente do genótipo analisado, o cozimento por 20 minutos, seja em ebulição, ou em vapor, induziu aumento dos níveis de α e γ - tocoferol nas inflorescências. O conteúdo de clorofila, em 'Verde di macerata' aumentou em função do cozimento. No entanto, o processamento térmico e o tempo usado para cocção não aumentaram os níveis de antocianinas na 'Graffiti', com relação ao material cru. 'Verde di Macerata' e Cheddar', apesar de pouco consumidas, podem ser boas fontes de carotenoides, provitamicos A e tocoferol. Os cozimentos não afetaram negativamente o aspecto visual das couves-flores.

Palavras-chave: *Brassica oleracea var. botrytis*; provitamínicos A; tocoferol; CIELab

Effect of domestic cooking on the carotenoids profile in colored cauliflowers

ABSTRACT

Besides the visual aspects of the vegetables, consumers seek foods with high nutritional content, rich in bioactive components. Cauliflowers are generally associated with healthy diets due to its positive impact on human health. Genetic mutation in cauliflowers have been showing the build-up of some liposoluble antioxidants, such as carotenoids and tocopherols. This research aims at evaluating the effects of cooking processes (boiling, steaming and microwave) under different preparation times, in the content of carotenoids, α e γ -tocopherols in colored cauliflowers, as well as the provitamin-A (pVACs), the retinol activity equivalents (RAE), and verify the effect of the cooking process in the colouring maintenance of the inflorescences. The results revealed that the thermal process promotes an increase in the contents of the antioxidant compounds analyzed in this work (carotenoids and pVACs), independently of the genotype, when compared to the raw material and, altered the tocopherol levels and color attributes of the vegetables. The highest contents of zeaxanthin and lutein were found in the 'Verde di Macerata', primarily after the boiling thermal process of 5 and 20 minutes. The cauliflower 'Cheddar' presented the highest contents of all carotenoids, and when cooked under vapor for 20 minutes, the highest levels of pVAC and RAE were observed. Increases in the content of pVAC, RAE and Σ carotenoides were observed in the 'Forata' and 'Graffiti'. Independently of the analyzed genotype, the 20 minutes cooking, either boiling or steaming, induced an increase in the levels of α e γ -tocopherols in the inflorescences. The content of chlorophyte, in the 'Verde di Macerata' increased due to the cooking procedure. However, the thermal process and the time used in the cooking procedure did not increase the levels of anthocyanins in the 'Graffiti', in relation to the raw material. 'Verde di Macerata' and 'Cheddar', although little consumed, can be good sources of carotenoids, provitamin-A and tocopherols in diets. The cooking procedures did affect negatively the visual aspect of the cauliflowers.

Keywords: *Brassica oleracea* var. *botrytis*; provitamins A; tocopherol; CIELab

3.1 INTRODUÇÃO

Alimentos ricos em compostos bioativos são visados por consumidores que buscam produtos vegetais de alta qualidade nutricional e sensorial (MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ et al., 2013). A aparência é um dos atributos de qualidade sensorial mais importantes nos alimentos, tanto frescos como processados (PATHARE et al., 2012; COSTA et al., 2011; GROSSMAN & WISENBLIT, 1999), resultando na aceitabilidade ou rejeição para o consumo (NISHA et al., 2011; PEREIRA et al., 2009; LEON et al., 2006). O aspecto visual está diretamente relacionado a cor do vegetal (PATHARE et al., 2012) e fatores nutricionais que refletem nos níveis dos antioxidantes e outros fitoquímicos.

Couves-flores de coloração branca são geralmente as mais produzidas e consumidas, e o seu alto valor nutricional está relacionado ao impacto positivo na saúde humana, dentre eles, pela redução do risco de doenças crônicas (AHMED & ALI, 2013). Pigmentação alaranjada em inflorescências de couves-flores brancas foram identificadas e atribuídas ao acúmulo elevado de β -caroteno nos tecidos das plantas (LI et al., 2006). O β -caroteno, se destaca por sua atividade provitaminico A e alta capacidade antioxidante (KOPEC et al., 2014). Não obstante, α -caroteno e criptoxantina também são reconhecidos como compostos provitaminicos A. A ingestão de carotenoides em geral, além do aumento de vitamina A no organismo, podem atenuar o risco de diabetes e até inibir o desenvolvimento de doenças cardiovasculares devido a sua capacidade antioxidante (KULCZYŃSKI et al., 2017; KOPEC et al., 2014).

O β -caroteno e a luteína são os carotenoides dominantes em Brassicas (PODSEDEK, 2007). A luteína e zeaxantina, não provitaminicos A, estão presentes principalmente em vegetais de pigmentação verde como espinafre, couve (SHARDELL et al. 2011; PODSEDEK, 2007) e brócolis (HART & SCOTT, 1995; MULLER, 1997). Esses compostos, quando presentes no organismo, podem reduzir doenças como degeneração macular e deterioração cognitiva (YANG et al., 2016).

Outro grupo de antioxidantes que ocorrem naturalmente em vegetais são os tocoferóis e tocotrienóis, comumente chamados vitamina E, entretanto, há controvérsias sobre as atividades de vitamina E exibidas por suas diferentes formas

(KNECHT et al., 2015). Dessa maneira, o α -tocoferol tem sido usado para estimar os requisitos de vitamina E, uma vez que os β , γ - e δ -tococromanois não são convertidos em α -tocoferol em humanos (Institute of Medicine, 2000). Em vegetais, como couve-flor colorida (branca, 'cheddar' e roxa) e brócolis o conteúdo de α -tocoferol foi maior, comparado ao γ -tocoferol (GUZMAN et al., 2012; IBRAHIM & JUVIK, 2009). Durante o processamento de alimentos, alguns autores sugerem que a perda de vitamina E ou β -caroteno pode estar relacionada a enzimas oxidativas (LESSIN et al., 1997; MURILLO, PLUMPTON, GAUNT, 1976). No entanto, não é clara a resposta desses fitoquímicos nos alimentos quando submetidos a algum tipo de preparo antes do consumo.

As clorofilas são os principais pigmentos em hortaliças de coloração verde, e são responsáveis pela fotossíntese (PACIULLI et al., 2017) e, alguns estudos sugerem que eles contribuem para atividades antioxidantes, antimutagênicas e antivirais em humanos (SAKDARAT et al., 2009; FERRUZZI & BLAKESLEE, 2007). As moléculas de clorofila são termolábeis; portanto, quando expostas a algum tipo de processamento térmico sofrem modificações químicas e bioquímicas (RUNDRA et al., 2008). As antocianinas, pigmentos majoritários em couves-flores de coloração roxa, são considerados hidrossolúveis e apresentam esta mesma característica.

Alguns estudos reportam que o cozimento pode aumentar a disponibilidade dos compostos bioativos em hortaliças, retidos na matriz vegetal (BORGES et al., 2018; LIMA et al., 2017; MINATEL et al., 2017; PRETI, RAPA, VINCI, 2017; DOS REIS et al., 2015). Por outro lado, existe a influência do método escolhido e o tempo de cozimento para o preparo do alimento, que pode promover perdas de nutrientes.

Comparando diferentes matrizes vegetais (inflorescências, folhas e frutos) após cozimento, Paciulli et al. (2017) constataram que, dentre elas, as inflorescências apresentaram os maiores valores de degradação de clorofilas (90% em brócolis). Os autores ainda inferem que a taxa de degradação foi influenciada pelo tempo de tratamento, quanto maior tempo de permanência em ebulição, mais evidente era a degradação (16% nas clorofilas totais após 3,5 minutos, 40% após 5 minutos e 90% após 8 minutos). Enquanto, os cozimentos em vapor e no micro-ondas apresentavam menores perdas.

O cozimento também alterou os níveis de vitamina E em pimentão vermelho, cenoura e brócolis comparadas as amostras cruas, especialmente em brócolis

(KNECHT et al. 2015). Modificações nos níveis de carotenoides induzidos por tratamento térmico que resultam em alterações na cor dos vegetais são relatados na literatura (AHMED, SHIVHARE, MANDEEP, 2002; TANSEY, GORMLEY, BUTLER, 2010), como por exemplo em cenouras, que além da redução dos níveis de carotenoides também apresentaram modificações em sua coloração, comparada com o material cru (KNECHT et al. 2015).

De modo geral, a maioria das pesquisas desenvolvidas com alimentos processados termicamente têm estudado materiais comumente comercializados e, mesmo assim, as informações sobre os níveis de determinados compostos bioativos em Brássicas são limitadas. O efeito direto do cozimento e o tempo de exposição ao calor na coloração de hortaliças, principalmente em couves-flores coloridas (verde, amarela e roxa) não são encontrados na literatura.

Assim, o objetivo deste estudo foi elucidar os efeitos de diferentes tempos e tipos de cozimentos (ebulição, vapor e micro-ondas) no conteúdo de antioxidantes lipossolúveis em couve-flor 'Verde di Macerata', 'Cheddar', 'Forata' e 'Graffiti', e verificar o efeito do cozimento na manutenção da coloração das inflorescências. Ademais, este trabalho pretende contribuir com informações sobre os níveis de tocoferóis e carotenoides em couves-flores coloridas.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Material Vegetal

As couves-flores coloridas 'Verde di Macerata' (verde), 'Cheddar F1' (amarela), 'Forata' (branca) e 'Graffiti' (roxa) foram obtidas em áreas de cultivo comercial, selecionadas de acordo com a sanidade das plantas, evitando as que apresentavam algum tipo de dano. As inflorescências foram higienizadas em água corrente e os floretes foram cortados e padronizados quanto ao tamanho (aproximadamente cinco centímetros), homogeneizados e higienizados por imersão em água clorada com hipoclorito de sódio (100 mg/L) por 10 minutos, seguido de lavagem em água (Figura 1).

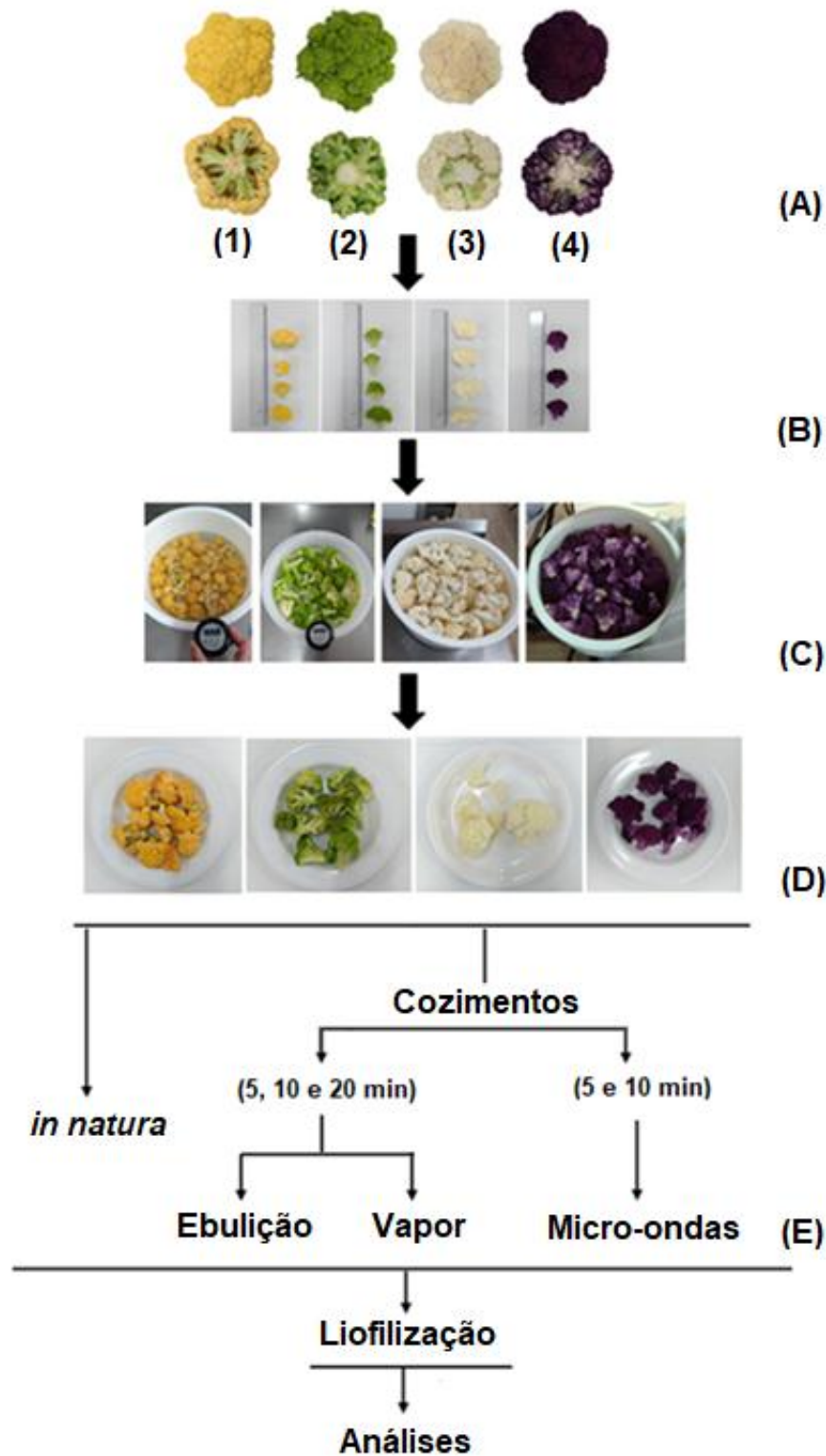


Figura 1. Fluxograma da preparação das amostras de couves-flores. 1(A) couve-flor ‘Cheddar’, 2(A) ‘Verde di Macerata’, 3(A) ‘Forata’ e 4(A) ‘Graffiti’; (B) separação das inflorescências em floretes de aproximadamente cinco centímetros; (C) processo de homogeneização e higienização das couves-flores; (D) separação das amostras; (E) aplicação dos tratamentos térmicos e preparo das amostras para as análises.

3.2.2 Processamento térmico

Porções de aproximadamente 300 g das couves-flores foram separadas e submetidas a diferentes tempos e tipos de processamento térmico. Parte de cada genótipo foi mantido *in natura*. As couves-flores foram processadas por ebulição (cozimento a 95 °C em panela de aço inoxidável, com tampa, contendo 1000 mL de água) e vapor (cozimento a 95 °C em vaporeira de aço inoxidável, com tampa, contendo 800 mL de água). A cocção das amostras em micro-ondas (Panasonic, 700 W) (potência média em recipiente de vidro, contendo 100 mL de água e coberto com filme plástico) foi realizada por 5 e 10 min. A partir dos tratamentos térmicos empregados, as inflorescências foram separadas em subamostras (n=3), as quais foram liofilizadas (Liofilizador Terroni Equipamentos Científicos, São Carlos, Brasil, modelo LD1500), pulverizadas em pó fino e armazenadas a -80 °C.

3.2.3 Cor

Os valores colorimétricos de luminosidade (L^*), cromaticidade (C^*) e o ângulo Hue (h^*) foram determinados de acordo com a Commission Internationale de l'Eclairage (CIE), em amostras liofilizadas de couves-flores (n=3), utilizando colorímetro portátil (Konica Minolta, modelo CR-300, Tóquio, Japão). O instrumento foi calibrado com uma placa branca antes das observações. Este sistema utiliza coordenadas cilíndricas em comparação com o sistema de coordenadas retangulares da CIELab. Para calcular os valores de a^* e b^* , utilizamos as equações de a^* ($a^* = C^* \times \cos h^\circ$) e b^* ($b^* = C^* \times \sin h^\circ$).

3.2.4 Identificação e Quantificação dos carotenoides e tocoferóis via CLAE

3.2.4.1 Processo de extração saponificada

Em 150 mg de couves-flores liofilizadas (Verde di Macerata, Cheddar, Forata e Graffiti) foram adicionados 100 µL de pyrogallol 12% em etanol, 200 µL de KOH 30% e 1 mL de etanol. As amostras foram homogeneizadas por 45 segundos em vortex, permanecendo em banho maria por 2 horas (37°C). Em seguida, 1 mL de água ultra pura foi adicionada aos tubos de ensaio e homogeneizada (vórtice por 45 segundos). Eter:hexano (2:1 v/v) (3 mL) foram adicionados a mistura e após homogeneização, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos (3000 x g a 4 °C). Aos sobrenadantes

foram adicionados 1 mL de água ultra pura e 1 mL de etanol. Este procedimento foi repetido por três vezes e os sobrenadantes foram agrupados. Após secagem em nitrogênio gasoso, as amostras foram resuspensas em 150 µL etanol. Para a injeção em HPLC/DAD foram usados 20 µL de cada amostra.

3.2.4.2 Análise de carotenoides e tocoferóis por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As análises foram realizadas segundo método descrito por Yeum & Russell (2002). Para identificação e quantificação dos compostos utilizou-se um sistema HPLC de fase reversa Thermo Scientific Ultimate 3000 (Thermo Scientific, EUA), equipado com um detector de diodos e uma coluna C30 para carotenoides (5 µm, 150 x 4,6 mm, YMC, Wilmington, NC). A fase móvel consistiu de metanol: éter metil terc-butílico (MBTE): água (85: 12: 3, v/v/v) com 1,5% de acetato de amônio em água para o solvente A e metanol: MTBE: água (85: 12: 3, v/v/v) com 1,0% de acetato de amônio em água para o solvente B (Li et al., 2009). O gradiente dos solventes foi de 90% A e 10% B (2 min), 85% A e 15% B (5 min), 75% A e 25% B (9 min), 60% A e 40% B (12 min), 17% A e 83% B (16 min), 5% A e 95% B (23 min), 5% A e 95% B (25 min), 60% A e 40% B (28 min), com fluxo de 0,4 mL min⁻¹ (10 °C).

Os carotenoides e os provitaminicos A foram quantificados a 450 nm, α-tocoferol a 298 nm e γ-tocoferol a 292 nm. As áreas foram determinadas e comparadas com curvas padrões de luteína, zeaxantina, t-criptoxantina, t-α e t-β-caroteno, α-tocoferol e γ-tocoferol. Os resultados foram expressos em µg por 100 g de couve-flor e todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.2.5 Determinação da Equivalente de Atividade de Retinol (RAE)

A atividade retinol equivalente (RAE) foi quantificada considerando 1 µg de retinol para cada 12 µg de t-β-Caroteno ou 24 µg de outros carotenoides provitaminicos A (pVACs) (YEUM & RUSSELL, 2002). Para t-criptoxantina e t-α-caroteno consideramos o valor de conversão 24:1 por grama de ingestão de carotenóides (DAVEY et al., 2009). Com base nas conversões, determinamos o equivalente de atividade de retinol (RAE) e, conseqüentemente, o valor nutricional da vitamina A para cada genótipo analisado.

3.2.6 Determinação das Clorofilas totais

Amostras de couve-flor 'Verde di Macerata' foram extraídas em acetona:água (80:20 v/v), homogeneizadas por um minuto e mantidas em banho ultrassônico (Eco-sonics, Ultronique) por 30 min. Após centrifugação em 6000 rpm por 15 min, a 5 °C (Heitich Zentrifugen, MIKRO 220R), o sobrenadante foi utilizado para determinação do conteúdo de clorofilas totais, segundo metodologia proposta por Lichtenthaler (1987). As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 663 nm (clorofila a) e 646 nm (clorofila b).

Os valores de absorvância foram convertidos em mg de clorofilas totais por 100 g de amostra seca, com base nas fórmulas:

$$Ca = (12,25 \times A663) - (2,49 \times A646)$$

$$Cb = (21,50 \times A646) - (2,49 \times A663)$$

$$Ca + b = (12,25 \times A663) + (2,49 \times A646)$$

Onde:

Ca - Clorofila a;

Cb - Clorofila b;

Ca+b - total de Clorofilas;

3.2.7 Extração e análise das Antocianinas Totais na couve-flor 'Graffiti'

A conteúdo de antocianinas foi quantificado pelo método de pH diferencial (GIUSTI & WROLSTAD, 2001). Para o preparo dos extratos, as amostras liofilizadas foram homogeneizadas em solução de metanol:água (70:30 v/v), acidificado com ácido acético a 10%. Após 20 min em banho ultrassônico, as amostras foram centrifugadas a 6000 rpm (5 °C) por 20 min. Em alíquotas de 50 µL do extrato, foi adicionado 950 µL da solução de cloreto de potássio 0,025 M (pH 1) ou tampão acetato de sódio 0,4 M (pH 4,5). Após 15 min na ausência de luz, a absorvância foi medida a 520 e 700 nm. O teor de antocianinas totais foi expresso como mg equivalentes de cianidina 3,5 diglicosídeo por 100 g de amostra liofilizada (peso seco), usando o coeficiente de absorção molar de 30.175 L mol⁻¹ cm⁻¹ (cianidina 3,5 diglicosídeo) para o cálculo.

3.2.8 Determinação da capacidade antioxidante por ABTS

Os extratos foram preparados a partir de 30 mg de amostras liofilizadas das couves-flores branca, verde e amarela e 20 mg de amostra para couve-flor roxa, com a adição de 5 mL de metanol:água (70:30 v/v), acidificado com ácido acético a 10%. As amostras foram homogeneizadas e mantidas em banho ultrassônico por 20 minutos. Após centrifugação por 10 minutos a 6000 rpm (5 °C), o sobrenadante foi recolhido. O processo foi repetido duas vezes e os sobrenadantes foram agrupados.

A atividade sequestradora do radical 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid – ABTS) foi determinada segundo metodologia de Re et al. (1999). O radical ABTS foi produzido pela reação entre 7 mM de ABTS em água e 140 mM de persulfato de potássio, armazenado no escuro à temperatura ambiente por 16h antes do uso. Em 1 mL do radical foi preparada a solução ABTS, adicionando 100 mL álcool etílico (1:100 v/v). A solução resultante foi ajustada para absorvância de $0,700 \pm 0,050$. Trinta microlitros do extrato foram então adicionados a 3 mL da solução ABTS (n=3). As amostras foram homogeneizadas e permaneceram no escuro por 6 minutos, em seguida foram lidas a 734 nm. Uma curva padrão de Trolox foi utilizada e os resultados foram expressos em mmol de equivalente de Trolox por 100 g de amostra seca.

3.2.9 Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com nove tratamentos por genótipo e três repetições. As amostras foram analisadas em triplicata e submetidas a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de média de Scott - Knott ($p < 0,05$). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (média \pm DP). A análise dos componentes principais foi realizada usando o software XLSTAT - versão 2019.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Impacto dos genótipos e do processamento térmico no teor de carotenoides

O conteúdo dos carotenoides, equivalente de atividade de retinol (RAE) e tocoferol nas couves-flores coloridas variou significativamente em função do processamento térmico e do tempo de cozimento empregado (Tabela 1). O cozimento

das hortaliças promoveu aumento de carotenoides, comparados com o material cru; entretanto, essas alterações nos diferentes processamentos são dependentes dos genótipos analisados, como verificado em outros trabalhos de couves-flores (LEE et al., 2018).

Visando um modelo de agrupamento dos diferentes genótipos analisados em função do teor de carotenoides em couves-flores foi aplicada a análise de componentes principais ao conjunto dos dados. A dispersão dos genótipos de acordo com o eixo CP1 e CP2 é mostrada na Figura 2. CP1 e CP2 explicaram 91,07% da variação dos dados. Por meio da ACP, percebe-se claramente a formação de quatro agrupamentos. O eixo CP1 representa a maior variância total dos dados (73,29%) e foi responsável em agrupar os genótipos pelos teores de carotenoides totais analisados (i.e., luteína, Σ carotenoides, carotenoides da provitamina A, t- α Caroteno e t- β Caroteno). Os genótipos 'Verde di Macerata' e 'Cheddar' foram agrupadas na CP1+, apresentando destaque nos carotenoides analisados, independente do processamento térmico empregado. Os genótipos 'Graffiti' e 'Forata' apresentaram os menores teores dos carotenoides analisados, agrupando-se em CP1-.

A CP2 apresentou 17,78% da variância dos dados e foi responsável em agrupar os genótipos, em função das diferentes classes de carotenoides analisados. A couve-flor 'Cheddar' apresentou os maiores teores dos carotenoides provitamínicos A (pVACs), principalmente β -caroteno, resultando também em maiores teores de equivalente de retinol (CP1+ e CP2-). O β -caroteno apresenta o dobro de atividade de vitamina A, quando comparado com os outros pVACs, o que explica a maior correlação deste pVAC com o equivalente de atividade de retinol ($r = 1$, $p < 0,05$). O processamento térmico induziu aumento dos teores de pVACs, não havendo um agrupamento da amostra crua com os carotenoides analisados para este genótipo.

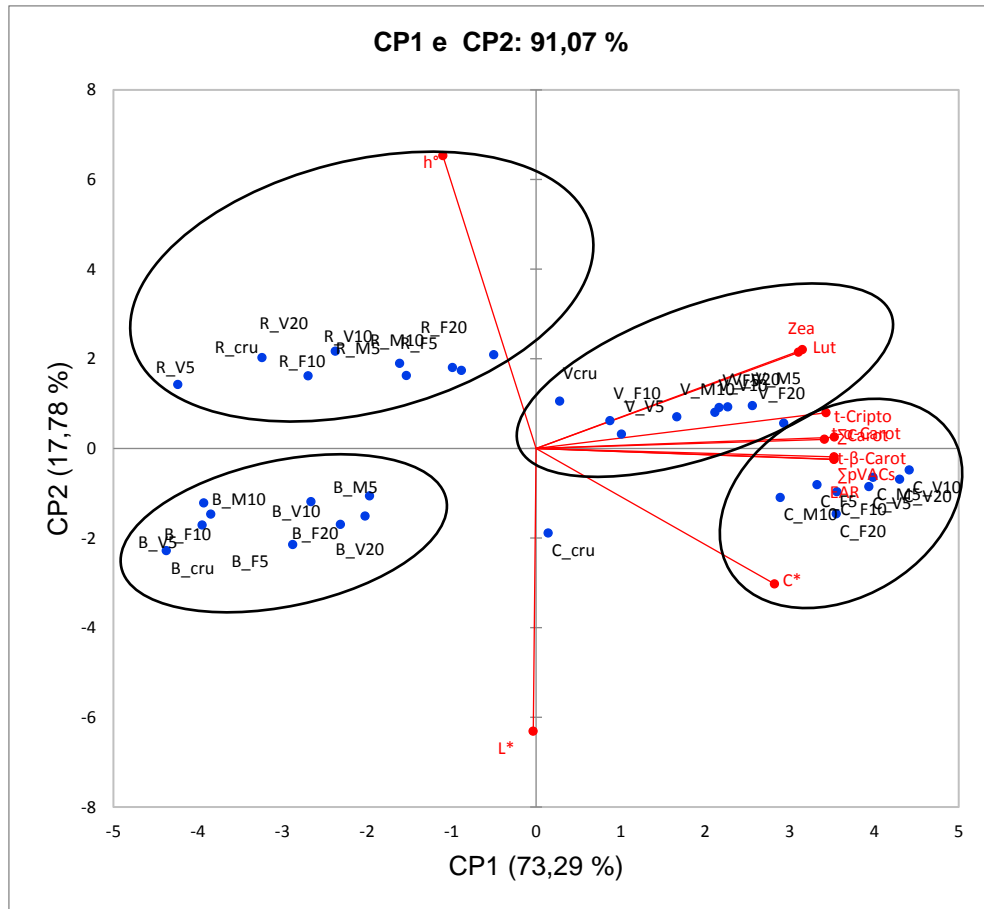


Figura 2. Projeção bidimensional e escores dos carotenoides (Lutenína e Zeaxantina), pro-vitamínicos A (t-Criptoxantina, t- α Caroteno e t- β Caroteno), Σ pVACs, equivalente de atividade de retinol (RAE) e Σ Carotenoids em couve-flor colorida processada termicamente. Os tratamentos são representados pelos pontos, onde as letras iniciais representam os genótipos (V = 'Verde di Macerata', G = 'Graffiti', F = 'Forata' e C = 'Cheddar') e as letras após sublinhado representam os métodos de cozimento (cru, F = ebulição, V = vapor e M = micro-ondas) e os números representam o tempo de cozimento (5 e 10 min).

O tratamento térmico afeta a parede celular da matriz alimentar, o que pode melhorar a extração dos compostos antioxidantes. O estudo de retenção de carotenoides após o processamento térmico tem sido uma das principais preocupações nas preparações domésticas, podendo gerar perdas ou ganhos desses nutrientes, dependendo do método de preparo. De fato, estudos ressaltam que os carotenoides podem sofrer modificações químicas e alterações em seu conteúdo em função do processo térmico nos diferentes métodos de preparação (BORGES et al., 2018; LIMA et al., 2017). Além disso, as amostras com maiores teores de carotenoides

provitaminicos A, apresentaram alta correlação com o valor de C^* (croma) das inflorescências. A cultivar 'Cheddar', que possui coloração amarela, apresenta alto valor de C^* e correlação positiva com o teor de pVACs ($r = 0,77$, $p = 0,05$), β -caroteno ($r = 0,78$, $p = 0,05$) e RAE ($r = 0,77$, $p = 0,05$). Trabalhos realizados com bananas e plátanos ressaltam que genótipos com alto valor de C^* (polpa amarela/laranja), apresentam maior conteúdo desses compostos pVACs, principalmente após o cozimento térmico, como verificado no presente trabalho. Cultivares com coloração mais clara tendem a ter menores quantidades de carotenoides (baixo C^* e alto h°), principalmente os pVACs (BORGES et al., 2018).

A 'Verde di Macerata' apresentou os maiores teores de zeaxantina e luteína na maioria dos tratamentos (CP1+ e CP2+), principalmente luteína. Muitos estudos indicam que a luteína é encontrada principalmente em vegetais e está relacionada com a coloração verde das plantas, como verificado também nas couves-flores analisadas no presente trabalho. A luteína e a zeaxantina não são compostos pVACs, mas são carotenoides encontrados em altas concentração na retina, especialmente na mácula, e são responsáveis por protegerem as células oculares contra o estresse oxidativo. Muitos estudos indicam que a luteína e a zeaxantina podem reduzir o risco de várias doenças oculares, especialmente degeneração macular relacionada à idade (YANG et al., 2016). Os maiores teores destes compostos foram encontrados neste genótipo, principalmente, após o processamento térmico em ebulição por 5 e 20 minutos (Tabela 1). A termoestabilidade da luteína pode ser um dos fatores que resultam no aumento desse carotenoide após o cozimento (HENRY, CATIGNANI, SCHWARTZ, 1998), assim como inibição de enzimas oxidativas (BALOCH, BUCKLE, EDWARDS, 1977) e eficiência da extração pela temperatura (BORGES et al., 2018), principalmente pelo rompimento do complexo carotenoide-proteínas (SIRIAMORNUN et al., 2012).

Tabela 1. Carotenoides, pro-vitamínicos A (pVACs) e equivalente de atividade de retinol (RAE) em couves-flores coloridas, antes e após processamento térmico.

Método de Cozimento	Tempo (min)	Luteína	Zeaxantina	pVACs			∑ pVACs	RAE	∑ Carotenoides
				t-Criptoxantina	t-αCaroteno	t-βCaroteno			
µg/100 g m.s.									
‘Verde di Macerata’									
	Cru	571.97 ± 0.00 H ¹	17.73 ± 0.00 F	4.39 ± 0.00 D	32.87 ± 0.00 F	808.17 ± 0.00 I	845.42 ± 0.00 I	68.90 ± 0.00 I	1435.12 ± 0.00 G
Ebulição	5	1105.00 ± 0.62 D	64.00 ± 0.38 B	6.70 ± 0.29 B	101.08 ± 19.29 C	2404.16 ± 23.82 D	2511.94 ± 4.25 D	204.84 ± 1.17 D	3680.94 ± 5.25 C
	10	669.55 ± 1.10 F	17.03 ± 0.14 F	4.56 ± 0.24 D	72.81 ± 2.10 E	1420.12 ± 0.06 H	1497.48 ± 2.28 H	121.57 ± 0.09 H	2184.06 ± 3.52 F
	20	1563.71 ± 20.69 A	89.46 ± 1.49 A	8.38 ± 0.77 A	117.54 ± 1.74 B	3224.86 ± 11.77 A	3350.78 ± 14.28 A	273.99 ± 1.09 A	5003.94 ± 4.91 A
	5	620.11 ± 4.89 G	18.86 ± 2.48 F	5.84 ± 0.12 C	64.74 ± 1.40 E	1565.84 ± 2.09 G	1636.43 ± 0.58 G	133.43 ± 0.11 G	2275.39 ± 6.79 E
Vapor	10	1024.13 ± 60.18 E	49.26 ± 2.52 D	6.32 ± 0.41 B	84.92 ± 3.44 D	2540.06 ± 16.08 C	2631.30 ± 19.11 C	215.47 ± 1.47 C	3704.69 ± 81.81 C
	20	1220.21 ± 34.95 B	56.81 ± 3.08 C	6.32 ± 0.25 B	88.67 ± 4.40 D	2268.86 ± 7.69 E	2363.86 ± 12.34 E	193.03 ± 0.83 E	3640.88 ± 50.38 C
	5	1157.00 ± 11.13 C	25.12 ± 2.45 E	8.02 ± 0.25 A	143.95 ± 4.71 A	2596.20 ± 3.47 B	2748.17 ± 1.00 B	222.68 ± 0.10 B	3930.28 ± 12.58 B
Micro-ondas	10	1085.74 ± 6.02 D	19.36 ± 0.03 F	6.87 ± 0.39 B	112.43 ± 3.30 B	2124.03 ± 15.48 F	2243.33 ± 11.79 F	181.87 ± 1.14 F	3348.43 ± 17.78 D
	‘Cheddar’								
	Cru	111.45 ± 0.58 H	1.12 ± 0.04 E	4.38 ± 0.42 F	123.49 ± 4.47 G	1129.10 ± 3.70 F	1256.98 ± 1.18 G	99.42 ± 0.11 G	1369.55 ± 1.80 F
Ebulição	5	891.02 ± 9.32 A	23.26 ± 4.75 C	13.10 ± 1.46 B	914.09 ± 7.69 E	7889.84 ± 23.02 E	8817.03 ± 16.78 F	696.12 ± 1.66 F	9731.31 ± 2.72 E
	10	612.35 ± 4.90 E	47.79 ± 0.55 A	11.56 ± 0.22 C	1138.82 ± 8.62 B	8332.62 ± 9.10 D	9483.00 ± 17.50 D	742.32 ± 1.11 D	10143.13 ± 22.95 D
	20	457.39 ± 5.84 F	22.90 ± 7.04 C	12.51 ± 0.29 B	1275.26 ± 24.56 A	8316.51 ± 185.04 D	9604.28 ± 209.31 D	746.70 ± 16.43 D	10084.57 ± 222.19 D
	5	785.58 ± 4.31 C	41.34 ± 1.71 A	16.20 ± 0.75 A	925.90 ± 3.05 D	9144.65 ± 32.99 C	10086.75 ± 30.69 C	801.31 ± 2.65 C	10913.68 ± 36.72 C
Vapor	10	813.70 ± 1.00 B	45.35 ± 1.52 A	12.58 ± 0.28 B	1109.99 ± 2.47 B	9522.36 ± 26.34 B	10644.93 ± 29.10 B	840.30 ± 2.31 B	11503.97 ± 28.58 B
	20	760.40 ± 3.16 D	47.19 ± 1.34 A	10.21 ± 0.46 D	661.68 ± 14.40 F	10589.76 ± 31.00 A	11261.65 ± 16.13 A	910.48 ± 1.96 A	12069.24 ± 20.63 A
	5	791.74 ± 11.14 C	31.64 ± 0.65 B	11.42 ± 0.48 C	959.96 ± 18.16 C	9152.17 ± 34.22 C	10123.55 ± 15.58 C	803.15 ± 2.07 C	10946.94 ± 27.37 C
Micro-ondas	10	295.08 ± 1.79 G	8.39 ± 0.11 D	7.60 ± 0.09 E	1130.31 ± 27.45 B	8219.62 ± 11.06 D	9357.53 ± 16.49 E	732.38 ± 0.23 E	9661.00 ± 18.16 E

Continuação da tabela 1

		‘Forata’							
	Cru	8.18 ± 0.11 H	0.53 ± 0.07 F	0.40 ± 0.01 G	3.61 ± 0.06 G	23.81 ± 0.09 I	27.82 ± 0.15 I	2.15 ± 0.01 I	36.52 ± 0.10 G
Ebulição	5	59.84 ± 0.73 F	2.00 ± 0.02 D	1.81 ± 0.04 D	9.65 ± 0.60 B	127.95 ± 0.27 E	139.40 ± 0.37 E	11.14 ± 0.00 E	201.23 ± 1.13 D
	10	54.67 ± 0.10 G	2.38 ± 0.04 C	1.15 ± 0.01 F	6.55 ± 0.03 E	107.09 ± 0.29 F	114.79 ± 0.26 F	9.24 ± 0.02 F	171.84 ± 0.12 E
	20	77.28 ± 0.38 D	3.18 ± 0.32 B	2.16 ± 0.02 B	8.87 ± 0.16 C	189.07 ± 0.40 A	200.10 ± 0.58 A	16.22 ± 0.04 A	280.56 ± 1.28 A
Vapor	5	59.37 ± 0.19 F	2.09 ± 0.00 D	1.31 ± 0.03 E	6.40 ± 0.06 E	90.50 ± 0.02 H	98.21 ± 0.11 H	7.86 ± 0.01 H	159.67 ± 0.08 F
	10	92.53 ± 0.39 C	2.94 ± 0.03 B	1.80 ± 0.01 D	6.43 ± 0.16 E	135.40 ± 0.20 D	143.64 ± 0.05 D	11.63 ± 0.01 D	239.11 ± 0.41 C
	20	108.32 ± 0.96 A	3.47 ± 0.06 A	1.91 ± 0.01 C	7.75 ± 0.11 D	140.41 ± 0.73 C	150.06 ± 0.82 C	12.10 ± 0.06 C	261.85 ± 1.84 B
Micro-ondas	5	105.35 ± 0.70 B	3.08 ± 0.04 B	2.30 ± 0.08 A	12.07 ± 0.14 A	158.15 ± 0.77 B	172.52 ± 0.99 B	13.78 ± 0.07 B	280.95 ± 1.72 A
	10	63.37 ± 2.88 E	1.69 ± 0.04 E	1.34 ± 0.09 E	4.57 ± 0.06 F	103.20 ± 0.49 G	109.11 ± 0.52 G	8.85 ± 0.04 G	174.17 ± 3.43 E
		Graffiti							
	Cru	92.51 ± 0.16 G	2.74 ± 0.06 F	2.34 ± 0.06 E	11.80 ± 0.16 F	119.15 ± 0.05 E	133.28 ± 0.27 E	10.52 ± 0.01 E	228.53 ± 0.50 E
Ebulição	5	209.59 ± 10.64 B	6.07 ± 0.06 D	3.72 ± 0.36 B	22.14 ± 2.21 B	351.58 ± 19.90 A	377.43 ± 22.47 A	30.38 ± 1.77 A	593.09 ± 33.06 A
	10	134.73 ± 0.78 E	6.87 ± 0.14 C	2.34 ± 0.08 E	14.45 ± 0.58 E	115.88 ± 0.83 E	132.68 ± 1.49 E	10.36 ± 0.10 E	274.27 ± 0.85 D
	20	248.02 ± 3.59 A	14.23 ± 0.32 A	7.24 ± 0.05 A	31.80 ± 0.44 A	304.79 ± 0.99 B	343.83 ± 0.60 B	27.03 ± 0.07 B	606.07 ± 0.00 A
Vapor	5	58.35 ± 0.19 H	2.94 ± 0.13 F	0.84 ± 0.00 F	6.31 ± 0.81 G	44.84 ± 0.69 F	51.99 ± 1.50 F	4.03 ± 0.09 F	113.29 ± 1.18 F
	10	146.11 ± 1.75 D	6.18 ± 0.05 D	3.09 ± 0.05 C	14.71 ± 0.07 E	162.60 ± 0.05 D	180.40 ± 0.07 D	14.29 ± 0.00 D	332.69 ± 1.63 C
	20	113.29 ± 1.02 F	7.51 ± 0.19 C	2.64 ± 0.09 D	16.18 ± 0.35 D	122.96 ± 0.27 E	141.77 ± 0.01 E	11.03 ± 0.01 E	262.58 ± 0.83 D
Micro-ondas	5	158.01 ± 0.67 C	4.90 ± 0.09 E	2.98 ± 0.04 C	15.21 ± 0.05 E	168.63 ± 0.23 D	186.81 ± 0.24 D	14.81 ± 0.02 D	349.72 ± 0.82 C
	10	154.71 ± 1.51 C	9.56 ± 1.51 B	3.08 ± 0.04 C	18.87 ± 0.06 C	193.73 ± 0.10 C	215.68 ± 0.12 C	17.06 ± 0.01 C	379.95 ± 3.14 B
‘Verdi di Macerata’ CV (%)		2.46	4.62	5.73	7.73	0.57	0.45	0.48	3.21
‘Cheddar’ CV (%)		0.94	9.97	5.66	1.65	0.82	0.81	0.81	1.02
‘Forata’ CV (%)		1.55	4.81	2.83	3.05	0.37	0.41	0.39	0.80
‘Graffiti’ CV (%)		2.64	7.73	4.2	4.95	3.78	3.84	3.81	0.77

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna (por genótipo) não diferem estatisticamente entre si. O teste de Scott-Knott foi aplicado no nível de 5% de probabilidade. Os resultados foram expressos em média ± desvio padrão (n = 3).

Percebe-se que o processamento térmico foi eficiente em induzir maiores teores dos compostos antioxidantes analisados no presente trabalho, independente do genótipo e do tipo de carotenoide analisado (Tabela 1). A couve-flor 'Cheddar' contém o maior teor de pVAC e RAE após o cozimento em vapor por 20 minutos (11261,65 e 910,48 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$, respectivamente), além de apresentar os maiores conteúdos de todos os carotenoides ($\Sigma\text{carotenoides} = 12069,24\ \mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$). Couves-flores 'Verde di Macerata' também mostram valores altos de pVAC e RAE após o cozimento em ebulição por 20 minutos (3350,78 e 273,99 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$). Tanto 'Forata', como 'Graffiti' apresentaram incrementos de pVAC e RAE, assim como na $\Sigma\text{carotenoides}$, entretanto, o cozimento por 5 minutos em vapor apresentou diminuições em torno de 60% (Tabela1). Fatores como temperatura alta, luminosidade e oxigênio podem influenciar os níveis de carotenoides, por promover a isomerização, influenciando a equivalência em vitamina A (MERCADANTE, 2007). Além disso, o processamento térmico induz alterações na matriz do alimento, ocasionando mudanças dos níveis de carotenoides biodisponíveis na absorção pelas células intestinais e, conseqüentemente, aos tecidos alvos (BERNI et al., 2014).

As diferenças de conteúdo após o cozimento entre as couves-flores coloridas estudadas podem ser atribuídas a localização dos pigmentos. Em hortaliças verdes, alguns carotenoides estão localizados no cloroplasto, enquanto outros, podem estar localizados nos cromoplastos, influenciando a biodisponibilidade desses compostos após o cozimento (DE PEE et al., 1998; VISHNEVETSKY, 1999; BERNHARDT & SCHLICH, 2006). Por outro lado, em outras espécies de coloração alaranjada ou vermelha o β -caroteno está localizado nos cromoplastos (e.g. frutos) e são mais facilmente extraídos.

O cozimento em ebulição por 20 minutos induziu aumento de α - e β -caroteno em 'Verde di Macerata' e em 'Cheddar', em comparação com a inflorescência cru (Tabela 1), as quais apresentam os maiores teores em relação a 'Forata' e 'Graffiti'. Maiores tempos de cozimento em vapor tanto de 'Verde di Macerata', como de 'Cheddar' foram eficientes em aumentar os níveis desses pigmentos. Aumento dos níveis desses compostos também foram observados em ambas couves-flores após 5 minutos de cozimento em micro-ondas. Esse mesmo tempo de cozimento favoreceu incremento em 'Forata' de ambos os pigmentos, enquanto que nesta inflorescência esse resultado só foi atingido após 10 minutos de cocção em micro-ondas. Os níveis

de α - e β -caroteno encontrados neste estudo com a 'Forata' são muito similares aos descritos por Dos Reis et al. (2015) em couves-flores brancas processadas termicamente. Por outro lado, os valores obtidos para 'Verde di Macerata' estão próximos aos relatados pelos autores em brócolis. Esses compostos não foram detectados em couves-flores brancas e roxas por Guzman et al. (2012), os quais descrevem a presença de β -caroteno apenas em 'Cheddar'; entretanto, os resultados desses autores podem ter sido influenciados pelo tipo de extrator utilizado.

Criptoxantina, outro pVACs, apresentou alta correlação com o α ($r = 0,959$, $p < 0,05$) e β -caroteno ($r = 0.951$, $p < 0,05$), ocorrendo também em maiores níveis nas inflorescências 'Cheddar' processadas termicamente. Pelos resultados, o cozimento por 20 minutos em ebulição induz os maiores aumentos em comparação com os demais tempos de cozimento em todas as cultivares estudadas. Por outro lado, a 'Cheddar' apresenta variações não significativas entre o cozimento por ebulição por 5 ou 20 minutos (13,10 e 12,51 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$, respectivamente), ocorrendo aumento em torno de 4 vezes após o cozimento em vapor por 5 minutos (16,20 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$) em relação a crua (4,38 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$) (Tabela 1). Os teores de criptoxantina encontrados em 'Cheddar' estão próximos aos descritos por Dos Reis et al. (2015) em couve-flor branca, os quais também são os maiores dos encontrados na 'Forata'. Criptoxantina tem aproximadamente metade da atividade provitamina A quando comparada ao β -caroteno (Rodriguez-Amaya, 2001).

Nas inflorescências cruas da couve-flor 'Verde di Macerata', o conteúdo de luteína (571,97 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$), zeaxantina (17,73 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$), *t*-Criptoxantina (4,39 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$), *t*- α -Caroteno (32,87 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$), *t*- β -Caroteno (808,17 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$), Σ pVACs (845,42 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$), RAE (68,90 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$) e Σ carotenoides (1.435,12 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$) aumentou quando submetidas ao cozimento, com incrementos de até 63,42%, 80,18%, 47,61%, 77,17%, 74,94%, 74,77%, 74, 85% e 71,32%, respectivamente, comparado ao material cru. Resposta semelhante foi observada para 'Cheddar' com relação ao incremento dos compostos citados quando as inflorescências foram submetidas ao cozimento, com destaque ao conteúdo dos pro-vitâmicos A [*t*-Criptoxantina (16,20 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$), *t*- α (1.275,26 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$) e β -Caroteno (10.589,76 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$)], RAE (910,48 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$) e a Σ carotenoides (12.069,24 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$).

Ebulição por 20 minutos induziu aumentos nos níveis de luteína nas couves-flores 'Verde di Macerata' (1563,71 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$), 'Forata' (77,28 $\mu\text{g}/100 \text{ g m.s.}$) e

'Graffiti' (248,09 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$). O cozimento por 20 minutos em vapor, foi eficiente para aumentar os teores desse carotenoide em todas as couves-flores, exceto na 'Cheddar' que o melhor tempo foi 10 minutos (813,70 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$). O processamento térmico por 5 minutos em micro-ondas foi suficiente para induzir aumentos dos níveis de luteína em todas as cultivares analisadas, exceto na 'Graffiti' que nesse tipo de cozimento não variou em função do tempo. Os teores de luteína em couve-flor 'Verde di Macerata' estão muito próximos dos descritos por Dos Reis et al. (2015) em brócolis após cozimento por ebulição (1688,00 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$). Martín-Hernández et al. (2013) também descrevem aumentos dos níveis de carotenoide após cozimento.

Os maiores aumentos de zeaxantina nas couves-flores analisadas no presente trabalho são resultados do cozimento por ebulição por 20 min (89,46 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$ - 'Verde di Macerata') ou por 10 min (47,79 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$) na 'Cheddar'. Quando cozidas em micro-ondas, o tempo de 5 minutos foi eficiente para induzir os maiores aumentos dos teores de zeaxantina em ambas couves-flores. Os resultados encontrados para este carotenoide não-provitamina A em 'Verde di Macerata' são muito próximos aos descritos por Dos Reis et al. (2015) em brócolis, enquanto que os encontrados em 'Forata' estão próximos aos relatados por estes autores em couve-flor branca. Couves-flores 'Verde di Macerata' e Cheddar', apesar de pouco consumidas, podem ser fontes desses compostos na alimentação.

Para a Criptoxantina o cozimento por 20 minutos em ebulição, principalmente na couve-flor 'Cheddar', induz os maiores aumentos em comparação com os demais tempos de cozimento em todas as cultivares estudadas. Por outro lado, a 'Cheddar' apresenta variações não significativas entre o cozimento por ebulição por 5 ou 20 minutos (13,10 e 12,51 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$, respectivamente), enquanto que, houve aumento em torno de 4 vezes após o cozimento em vapor por 5 minutos (16,20 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$) em relação a crua (4,38 $\mu\text{g}/100\text{ g m.s.}$) (Tabela 1). Os teores desse pigmento pro vitamínico A em 'Cheddar' estão próximos aos descritos por Reis et al. (2015) em couve-flor branca, os quais também são os maiores dos encontrados na 'Forata'. Criptoxantina tem aproximadamente metade da atividade provitamina A quando comparada ao β -caroteno (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

De acordo com alguns estudos, o cozimento moderado e/ou homogeneização mecânica são processos que podem contribuir para o aumento de carotenoides,

devido ao amolecimento e rompimento da parede celular (LIMA et al., 2017; BORGES et al., 2018). Entretanto, o modo de preparo deve muitas vezes incluir uma quantidade moderada de gordura (ácidos graxos insaturados) para a máxima absorção dos carotenoides (VAND HET HOF et al., 2000). De acordo alguns estudos, β -caroteno está incorporado em complexos proteicos nos cloroplastos (caroteno proteínas) de hortaliças folhosas (vegetais verdes) e apresentam efeito inibidor na digestão e absorção (VISHNEVETSKY, 1999; BERNHARDT & SCHLICH, 2006). Por outro lado, em outras espécies de coloração alaranjada ou vermelha, β -caroteno está localizado nos cromoplastos e são mais facilmente extraídos (DE PEE et al., 1998).

3.3.2 *Impacto dos genótipos e do processamento térmico no teor de tocoferol*

Para melhor visualização dos dados foi aplicada a análise de componentes principais aos dados de tocoferol para verificação de possíveis agrupamentos dos genótipos antes e após o processamento térmico, em função destes compostos antioxidantes. CP1 e CP2 explicaram 98,68% da variação dos dados. Por meio da ACP, percebe-se claramente a formação de quatro agrupamentos. O eixo CP1 representa a maior variância total dos dados (69,47%) e foi responsável em agrupar os genótipos em função dos teores de tocoferol encontrados (α e γ -tocoferol). No geral, os maiores teores de tocoferol total foram detectados nas couves-flores 'Cheddar', principalmente após o processamento térmico (CP1+ e CP2-). O processamento térmico no vapor resultou em maiores teores de tocoferol total neste genótipo (88,97 mg/100g m.s.). A CP2 (29,20%) agrupou os tratamentos em função do tipo de tocoferol encontrado (Figura 3). Os maiores teores de α -tocoferol foram detectados no genótipo 'Cheddar' antes de ser submetido ao processamento (41,22 mg/100g m.s.) e no genótipo 'Verde di Macerata' submetido ao processamento térmico em ebulição por 5 (19,51 mg/100g m.s.) e 20 minutos (23,47 mg/100g m.s.) e em micro-ondas por 5 minutos (23,44 mg/100g m.s.) (CP1+ e CP2+). Já os teores de γ -tocoferol foram detectados em couve-flor 'Cheddar' após o processamento em ebulição por 20 minutos (65,74 mg/100g m.s.) e após a cocção em micro-ondas por 5 minutos (61,02 mg/100g m.s.) (CP1+ e CP2-).

Os níveis de tocoferol foram alterados após o processamento térmico (Tabela 2). Com exceção da 'Verde di Macerata', os níveis de γ -tocoferol são maiores que o de alfa-tocoferol e há uma tendência de o cozimento promover maior disponibilidade

de γ -tocoferol em 'Cheddar', 'Foratta' e Graffiti'. Maiores teores de γ em relação ao α -tocoferol também foi descrito por Piironen et al. (1986), enquanto que resultados contrários foram encontrados por Guzman et al. (2012) em couves-flores coloridas ('Cheddar' e 'Graffiti').

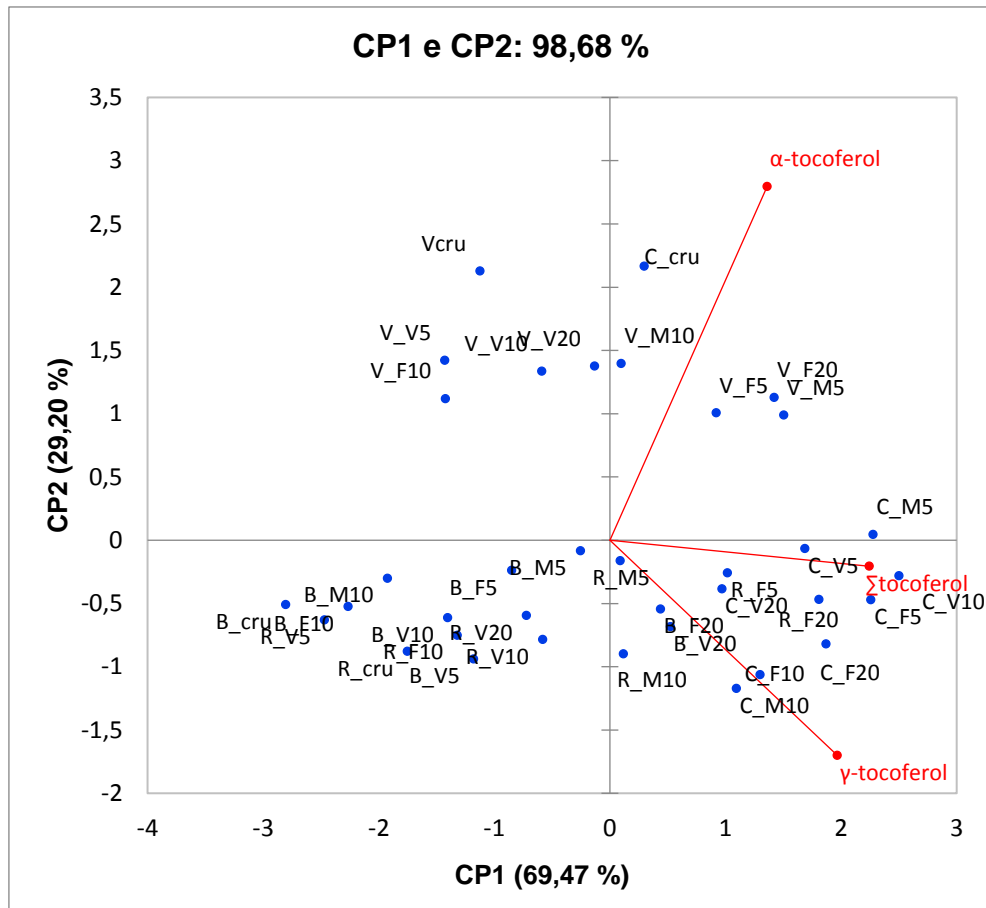


Figura 3. Projeção bidimensional e escores de α , γ e Σ tocoferol em couve-flor colorida processada termicamente. Os tratamentos são representados pelos pontos, onde as letras iniciais representam os genótipos (V = 'Verde di Macerata', G = 'Graffiti', F = 'Forata' e C = 'Cheddar') e as letras após sublinhado representam os métodos de cozimento (cru, F = ebulição, V = vapor e M = micro-ondas) e os números representam o tempo de cozimento (5 e 10 min).

O processamento térmico por 5 minutos em micro-ondas foi eficiente para aumentar os níveis de α e γ -tocoferol em todas as couves-flores coloridas, com exceção da 'Graffiti', a qual mostrou altos níveis de γ -tocoferol após 10 minutos de cozimento em micro-ondas, o que refletiu nos níveis de tocoferóis totais. O cozimento

por 20 minutos, seja em ebulição, ou em vapor, induziu aumento dos níveis de ambos compostos nas couves-flores, independente da coloração. Os níveis de α e γ -tocoferol encontrados neste estudo são maiores que os descritos em algumas Brássicas (PIIRONEN et al., 1986), incluindo couve-flor, entretanto muitas das literaturas encontradas expressam os dados em peso fresco, enquanto que o nosso resultado foi expresso em peso seco de amostras liofilizadas. Por outro lado, os resultados obtidos para as diferentes couves-flores coloridas estão próximos aos descritos por Guzman et al. (2012), que expressam os teores de α e γ -tocoferol em peso seco. As diferenças nos teores também podem ser atribuídas ao tipo de cultivo, clima e variedades, entre outros fatores bióticos e abióticos durante o desenvolvimento dessas hortaliças.

Apesar do γ -tocoferol não ser convertido em α -tocoferol em humanos e não ser reconhecido pela proteína transportadora de α -tocoferol no fígado, é uma molécula considerada antioxidante em hortaliças (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000). Por outro lado, outros estudos indicam que tanto α -, como γ -tocoferol exibem atividade de vitamina E (GUZMAN et al., 2012).

De acordo com Knecht et al. (2015), o cozimento de algumas hortaliças, e.g. brócolis, induz aumento de vitamina E. Maiores teores de tocoferol após o cozimento de brócolis e pimenta vermelha foram descritos por Bernhardt and Schlich (2006). Esses resultados também foram descritos em outras hortaliças folhosas como espinafre por Chun et al. (2006), os quais também demonstram que o cozimento em vapor não alterou os níveis de tocoferol em brócolis, comparado com o material cru. Em nosso estudo, apenas o cozimento a vapor por 5 minutos não foi eficiente para disponibilizar γ -tocoferol em 'Graffiti' (12,90 mg/100g), comparado com essas couves-flores cruas (20,45 mg/100g).

O aumento dos níveis de tocoferóis (α e γ) nas couves-flores coloridas após o cozimento é atribuído a facilidade de extração pelo calor, um processo semelhante ao descrito para carotenoides, isto é, ocorre um amolecimento da parede celular e rompimento das células, com liberação da vitamina E dos lipídeos (SIRIAMORNUN et al., 2012; LIMA et al., 2017; BORGES et al., 2018; LEE et al., 2018), com consequente desnaturação de proteínas e inativação da tocoferol oxidase (LEE et al., 2018), induzindo maior biodisponibilidade de vitamina E.

Tabela 2. Tocoferol (mg/100 g m.s.) em couves-flores coloridas, antes e após processamento térmico.

Couve-flor	Método de Cozimento	Tempo (min)	α -tocoferol	γ -tocoferol	Σ Tocoferol		
'Verde di Macerata'	Ebulição	Cru	20.18 \pm 0.00 B ¹	5.47 \pm 0.00 I	25.65 \pm 0.00 G		
		5	19.51 \pm 0.02 C	26.16 \pm 0.53 C	45.66 \pm 0.55 C		
		10	12.15 \pm 0.13H	11.83 \pm 0.02 G	23.97 \pm 0.15 H		
		20	23.47 \pm 0.03 A	28.10 \pm 0.17 B	51.57 \pm 0.20 B		
		5	13.29 \pm 0.31 G	10.61 \pm 0.19 H	23.90 \pm 0.11 H		
		10	15.38 \pm 0.34 F	15.55 \pm 0.15 F	30.93 \pm 0.19 F		
	Vapor	20	17.93 \pm 0.13 E	18.32 \pm 0.24 E	36.25 \pm 0.11 E		
		Micro-ondas	5	23.44 \pm 0.33 A	28.74 \pm 0.05 A	52.18 \pm 0.28 A	
			10	18.68 \pm 0.31 D	19.89 \pm 0.01 D	38.57 \pm 0.31 D	
		'Cheddar'	Ebulição	Cru	41.22 \pm 0.03 A	10.12 \pm 0.17 G	51.34 \pm 0.20 F
				5	12.35 \pm 0.80 D	70.79 \pm 0.41 B	83.14 \pm 0.38 B
				10	8.73 \pm 0.11 F	47.44 \pm 0.06 E	56.18 \pm 0.05 E
20	9.69 \pm 0.05 E			65.74 \pm 0.86 C	75.43 \pm 0.81 C		
5	12.84 \pm 0.23 D			45.78 \pm 0.03 E	58.62 \pm 0.21 D		
10	14.42 \pm 0.77 C			74.55 \pm 4.24 A	88.97 \pm 3.47 A		
Vapor	20		10.34 \pm 0.70 E	40.55 \pm 0.23 F	50.89 \pm 0.26 F		
	Micro-ondas		5	16.28 \pm 0.07 B	61.02 \pm 0.19 D	77.30 \pm 0.26 C	
			10	8.23 \pm 0.08 F	47.42 \pm 0.16 E	55.65 \pm 0.24 E	
	'Forata'		Ebulição	Cru	1.52 \pm 0.08 G	5.83 \pm 0.04 I	7.34 \pm 0.03 I
				5	8.31 \pm 0.03 C	22.24 \pm 0.04 E	30.55 \pm 0.02 D
				10	5.08 \pm 0.09 F	14.12 \pm 0.02 H	19.19 \pm 0.11 H
20		8.77 \pm 0.12 B		34.87 \pm 0.12 B	43.64 \pm 0.24 B		
5		5.24 \pm 0.02 F		23.84 \pm 0.07 D	29.09 \pm 0.09 E		
10		6.34 \pm 0.03 E		20.95 \pm 0.06 F	27.28 \pm 0.09 F		
Vapor		20	8.76 \pm 0.11 B	36.77 \pm 0.25 A	45.53 \pm 0.36 A		
		Micro-ondas	5	9.01 \pm 0.07 A	24.83 \pm 0.06 C	33.83 \pm 0.13 C	
			10	6.81 \pm 0.32 D	16.16 \pm 0.77 G	22.97 \pm 1.09 G	
		'Graffiti'	Ebulição	Cru	4.72 \pm 0.02 F	20.45 \pm 0.20 F	25.17 \pm 0.18 G
				5	11.30 \pm 0.77 A	39.81 \pm 2.55 B	51.11 \pm 3.32 B
				10	5.89 \pm 0.02 E	21.66 \pm 0.43 F	27.55 \pm 0.45 F
20	11.58 \pm 0.06 A			49.93 \pm 0.32 A	61.51 \pm 0.38 A		
5	3.25 \pm 0.05 G			12.90 \pm 0.04 G	16.15 \pm 0.09 H		
10	6.91 \pm 0.12 D			25.67 \pm 0.14 e	32.59 \pm 0.02 E		
Vapor	20		7.07 \pm 0.14 D	24.65 \pm 0.05 e	31.72 \pm 0.09 E		
	Micro-ondas		5	9.68 \pm 0.07 B	26.90 \pm 0.13 d	36.58 \pm 0.21 D	
			10	8.10 \pm 0.02 C	34.60 \pm 0.08 c	42.71 \pm 0.10 C	
	'Verdi di Macerata'		CV (%)	1.22	1.19	0.71	
	'Cheddar'		CV (%)	3.01	2.82	1.87	
	'Forata'		CV (%)	1.92	1.24	1.38	

Continuação da tabela 2

'Graffiti'	CV (%)	3.48	3.07	3.13
¹ Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna (por genótipo) não diferem estatisticamente entre si. O teste de Scott-Knott foi aplicado no nível de 5% de probabilidade. Os resultados foram expressos em média ± desvio padrão (n = 3).				

3.3.3 Impacto de genótipos e processamento térmico nas clorofilas e antocianinas

Os níveis de clorofilas totais foram analisados apenas em 'Verde di Macerata', enquanto que o de antocianinas totais foram analisados em 'Graffiti'. Os teores de clorofila aumentaram em função do cozimento em 'Verde di Macerata', exceto quando foi usado o cozimento em vapor por 20 minutos, as quais também mostraram baixa luminosidade (Tabela 3). O cozimento em micro-ondas por 10 minutos da 'Verde de Macerata' induziu escurecimento, refletido no valor negativo de a^* (-18.91) e b^* (-15.33) (Tabela 4).

Tabela 3. Clorofilas (mg/100g m.s.) e antocianinas totais (mg Cyd-3,5-diglu/100 g m.s.) em couves-flores coloridas, antes e após processamento térmico.

Método de cozimento	Tempo (min)	Verde di macerata	Graffiti
		Clorofilas totais	Antocianinas monoméricas totais
	Cru	19.27 ± 0.55 d ¹	1152.41 ± 38.84 a
Ebulição	5	28.92 ± 0.80 a	488.92 ± 90.29 c
	10	25.98 ± 0.57 b	662.07 ± 67.40 c
	20	21.47 ± 1.47 c	570.39 ± 92.59 c
	5	21.83 ± 1.60 c	1151.00 ± 75.65 a
Vapor	10	20.66 ± 0.79 c	971.81 ± 14.16 b
	20	18.10 ± 1.22 d	946.26 ± 125.66 b
	5	26.98 ± 0.83 b	952.96 ± 55.44 b
Micro-ondas	10	27.14 ± 1.52 b	1076.56 ± 39.74 a

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si. O teste de Scott-Knott foi aplicado no nível de 5% de probabilidade. Os resultados foram expressos em média ± desvio padrão (n = 3).

Nas couves-flores a diminuição do teor de clorofila não foi observada, mesmo após o cozimento. A diminuição dos níveis de clorofilas após o cozimento tem sido relatada em diversos estudos e esse efeito é atribuído à degradação da clorofila causada pela perda do átomo de magnésio do anel central (DAMODARAN et al., 2008; SILVA et al., 2016).

Independentemente do tipo de processamento térmico ou tempo usado, não houve aumento dos níveis de antocianinas em 'Graffiti'. O cozimento em vapor e em

micro-ondas resultaram na maior retenção desses flavonoides. Por outro lado, o cozimento em ebulição induziu perdas em torno de 50%, refletido no ângulo hue (h°) (Figura 3). É importante ressaltar que a coloração da água de cozimento foi alterada pela perda de antocianinas das células, devido a sua solubilidade. Diversas pesquisas relatam perda de antocianinas em função do processamento térmico, como a descrita por Xu et al. (2014) em repolho roxo, a qual apresentou perdas após o cozimento, principalmente quando cozidas em ebulição, alcançando diminuição dos níveis maiores que 60%. Esse incremento na perda de antocianinas é devido ao contato da hortaliça com a água, ocorrendo a migração dos flavonoides para a água por lixiviação (LO SCALZO et al., 2008). Esse efeito foi observado nas couves-flores 'Graffiti' e na água de cozimento, que ao final do processo, em todas as temperaturas testadas, apresentava coloração arroxeadada. Os níveis de antocianinas podem sofrer alterações devido a variações de temperatura, luz, pH, entre outros e processos de cozimento induzem alterações na matriz celular, além da sua alta solubilidade em água (HE & GIUSTI, 2010; LO SCALZO et al., 2008). Contudo, outros estudos demonstram que alguns tipos de processamento térmico, onde se utiliza pequena quantidade de água, como vapor e micro-ondas podem ser favoráveis em relação a manutenção dos níveis de antocianinas nos tecidos vegetais (MURADOR et al., 2014), como ocorreu em nosso estudo com o uso do cozimento em vapor e em micro-ondas, cujas perdas foram menores que 18% em ambos.

3.3.4 Impacto de genótipos e processamento térmico nos atributos de cor

Os valores de L^* , a^* e b^* nos quatro genótipos de couves-flores, antes e após processamento térmico estão representados na Figura 4. O cozimento alterou os atributos de cor da hortaliça em relação ao material cru (Figura 4a).

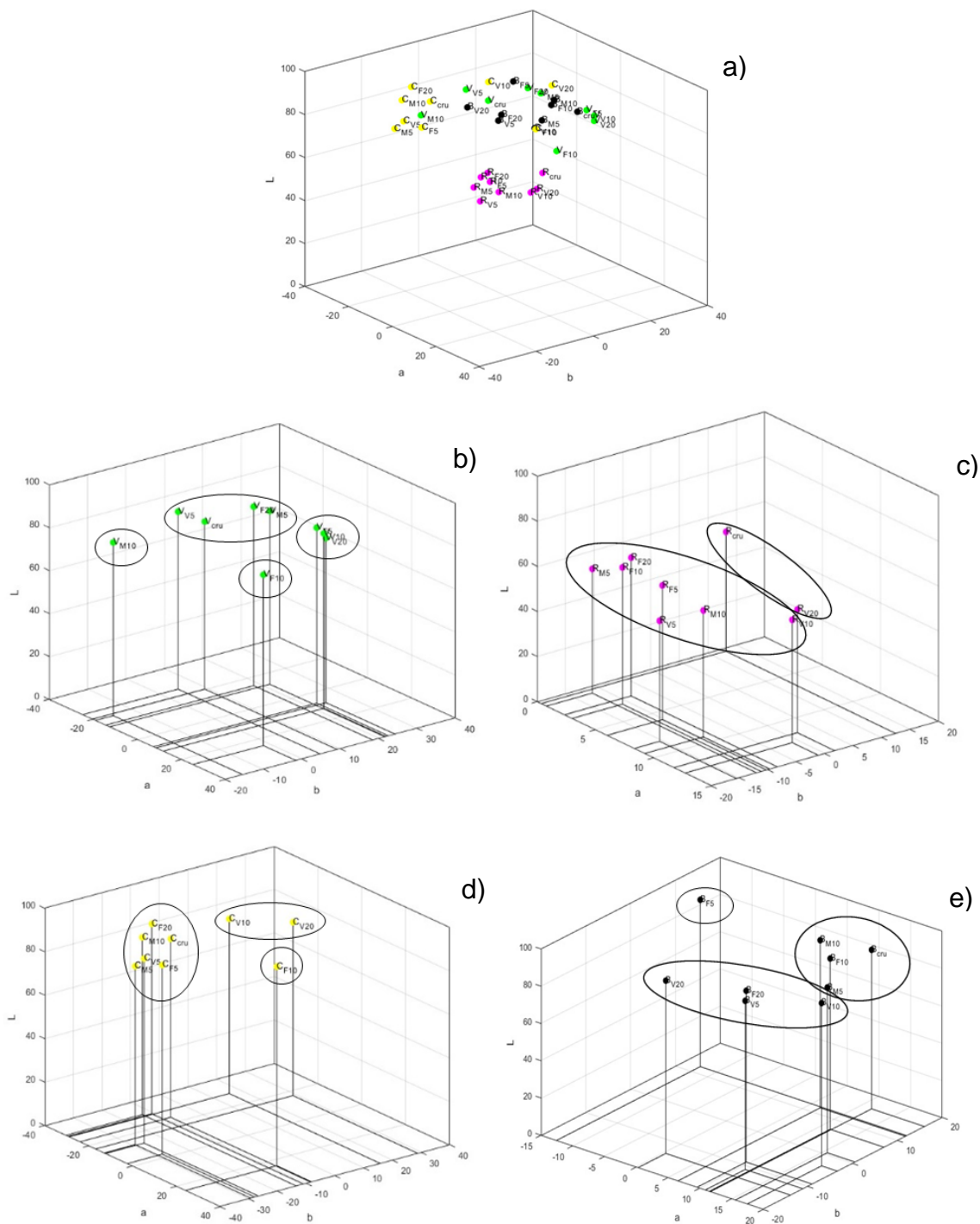


Figura 4. Luminosidade (L^*) e coordenadas a^* e b^* medidas em couves-flores coloridas antes e após processamento térmico (a). As figuras (b), (c), (d) e (e) representam variações de coordenadas de cores em três conjuntos de medidas realizados nas couves-flores 'Verde di macerata', 'Graffiti', 'Cheddar' e 'Forata', respectivamente, plotadas no espaço 3D. Os círculos nas imagens agrupam os tratamentos térmicos de acordo com o quadrante em que ocupam no espaço L^* , a^* e b^* .

As inflorescências frescas apresentaram menor valor L^* comparada as processadas termicamente (Tabela 4), exceto na 'Cheddar' cozidas por 20 minutos em vapor. O valor de L^* em 'Verde di Macerata' após cozimento em ebulição por 10 minutos (91,67) apresentou aumento de 10,30% comparado com o cru (82,22). Tempo maior de cozimento em ebulição (20 minutos) da 'Graffiti' e 'Cheddar' promoveu aumento de 13,67% e 6,44% do valor de L^* comparado às couves-flores cruas; enquanto o cozimento em vapor por 20 min induziu aumento de 7,98% na 'Forata'. Por outro lado, houve diminuição da luminosidade, com conseqüente escurecimento, após cozimento em vapor de 'Cheddar' (20 min) e em 'Verde di Macerata' (10 e 20 min). 'Verde di Macerata' também apresentou diminuição de L^* após cozimento em micro-ondas por 10 min. Nas inflorescências de cor verde cozidas a vapor foram observados valores positivos de a^* (vermelho) e b^* (amarelo), enquanto que as inflorescências cozidas em micro-ondas se encontraram no quadrante negativo a^* (verde) e b^* (azul) (Figura 4b).

Tabela 4. Luminosidade (L^*), coordenadas a^* e b^* , croma (C^*) e ângulo hue (h°) em couves-flores coloridas, antes e após processamento térmico.

Método de Cozimento	Tempo (min)	L^*	a^*	b^*	C^*	h°					
'Verde di Macerata'											
	Cru	82.22	e ¹	-20.29	e	9.24	d	25.33	f	85.16	g
Ebulição	5	87.12	c	7.23	c	22.49	b	27.88	e	92.59	b
	10	91.67	a	25.08	a	-1.50	f	25.38	f	93.92	a
	20	87.44	b	-14.26	d	18.51	c	31.20	c	91.46	d
	5	84.92	d	-24.74	f	4.84	e	29.24	d	92.24	c
Vapor	10	80.40	g	11.73	b	21.87	b	32.87	a	90.61	e
	20	79.81	h	8.48	c	24.26	a	33.37	a	90.06	f
	5	82.17	e	-12.50	d	21.68	b	31.93	b	92.26	c
Micro-ondas	10	81.66	f	-18.91	e	-15.33	g	33.13	a	91.52	d
	'Cheddar'										
	Cru	78.04	g	-23.87	e	-8.38	c	22.32	g	109.53	b
Ebulição	5	81.74	c	-2.41	b	-27.65	f	23.73	e	108.07	d
	10	79.63	f	24.05	a	-8.08	c	25.13	b	106.75	f
	20	83.41	a	-29.22	f	-10.89	d	23.38	f	102.76	h
	5	82.70	b	-12.35	c	-26.49	f	25.21	b	109.76	a
Vapor	10	81.49	d	-28.74	f	15.77	b	24.83	c	107.89	e
	20	76.74	h	-16.79	d	28.82	a	25.75	a	101.77	i

Continuação da tabela 4

Micro-ondas	5	80.68	e	-12.89	c	-29.19	f	25.04	b	108.91	c
	10	80.67	e	-30.29	f	-13.38	e	24.38	d	104.35	g
'Forata'											
	Cru	85.38	i	11.65	c	16.04	a	19.84	a	82.62	h
Ebulição	5	89.58	f	-12.55	g	12.09	b	17.43	c	90.34	g
	10	91.68	c	11.48	c	7.02	c	13.47	f	94.80	b
	20	91.93	b	9.52	d	-8.94	f	13.13	g	93.49	e
Vapor	5	90.55	d	10.86	c	-11.04	g	15.49	d	93.45	e
	10	87.39	h	17.44	a	-3.35	e	17.80	b	94.06	d
	20	92.78	a	0.31	f	-13.72	h	13.80	e	92.70	f
Micro-ondas	5	88.73	g	15.57	b	0.58	d	15.61	d	94.29	c
	10	89.96	e	6.55	e	11.77	b	13.50	f	95.31	a
'Graffiti'											
	Cru	52.91	h	0.35	e	12.39	a	12.47	d	353.40	a
Ebulição	5	59.52	c	6.00	c	-10.22	e	11.88	f	300.55	g
	10	60.58	b	2.95	d	-11.00	e	11.53	f	300.29	h
	20	61.29	a	2.34	d	-8.25	d	8.60	g	312.86	d
Vapor	5	53.45	g	8.32	b	-15.43	f	17.61	a	313.08	c
	10	54.44	f	12.68	a	-1.09	c	12.77	c	301.51	f
	20	54.58	f	11.73	a	1.75	b	11.89	f	314.31	b
Micro-ondas	5	55.07	e	0.80	e	-11.93	e	11.98	e	300.09	h
	10	56.06	d	9.17	b	-9.56	d	13.36	b	307.07	e

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna (por genótipo) não diferem estatisticamente entre si. O teste de Scott-Knott foi aplicado no nível de 5% de probabilidade. Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão (n = 3).

'Forata' possui maior luminosidade (L^*) do que as coloridas. L^* está correlacionado com os teores de zeaxantina ($r = 0,518$) e γ -tocoferol ($r = 0,580$). Maior cromaticidade (C^*) foi observada nas couves-flores 'Verde di Macerata' e foi correlacionada positivamente com os níveis de luteína ($r = 0,551$) e criptoxantina ($r = 0,509$). O croma também foi maior nas couves-flores 'Cheddar', correlacionado positivamente com zeaxantina ($r = 0,821$) e β -caroteno ($r = 0,784$) (Apêndice A -Tabela 5).

A inflorescência roxa ('Graffiti') possui maior valor de h° (353° - inflorescência crua) quando comparada as demais cultivares (verde, amarela e branca), as quais mostraram valores entre 82 a 110° . Essa medida (hue) na 'Graffiti' foi positivamente correlacionada com o teor de antocianinas ($r = 0,505$). Além do h° , o C^* também apresentou correlação forte ($r = 0,806$) com as antocianinas da 'Graffiti'.

O grau de saturação (C^*) aumentou após o cozimento de couves-flores de coloração verde, amarela e roxa (exceto no cozimento a vapor por 5 min na 'Graffiti')

e diminuiu na couve-flor branca ('Forata'). Também foi observado aumento na tonalidade (h°) em 'Verde di Macerata' e 'Forata' após tratamento térmico, exceto em 'Cheddar' e 'Graffiti', que mostraram redução comparado ao material cru. Provavelmente, essa diminuição da tonalidade da couve-flor roxa se deve a lixiviação das antocianinas após o cozimento (ebulição e vapor), indicando uma mudança de a^* positivo para a^* negativo (VOLDEN et al., 2009) (Figura 4c).

Nosso estudo demonstra, de maneira geral, que o processamento térmico e o tempo utilizado no preparo de couves-flores coloridas podem alterar as coordenadas de cores, mas não afetaram negativamente.

3.4 CONCLUSÕES

O processamento térmico promove aumento nos teores de carotenoides e pVACs, independente do genótipo, quando comparados com o material cru. O cozimento alterou níveis de tocoferol e os atributos de cor das hortaliças em relação ao material cru.

A 'Verde di Macerata' apresentou os maiores teores de zeaxantina e luteína na maioria dos tratamentos, principalmente após o processamento térmico em ebulição por 5 e 20 minutos. A couve-flor 'Cheddar' apresentou os maiores conteúdos de todos os carotenoides, e quando cozidas em vapor por 20 minutos observou-se o maior teor de pVAC e RAE. Incrementos no conteúdo de pVAC, RAE e Σ carotenoides foram observados em 'Forata' e 'Graffiti'. Entretanto, o cozimento por 5 minutos em vapor nas inflorescências da couve-flor 'Graffiti' ocasionou redução de aproximadamente 60% nos níveis desses compostos.

Os níveis de γ -tocoferol foram maiores que o de α -tocoferol após cozimentos das couves-flores. Independente do genótipo analisado, o cozimento por 20 minutos, seja em ebulição, ou em vapor, induziu aumento dos níveis de tocoferol (α e γ) nas inflorescências. Os teores de clorofila aumentaram em função do cozimento em 'Verde di Macerata'. No entanto, o mesmo efeito não foi observado com relação as antocianinas, em 'Graffiti'.

Nossos resultados inferem que couves-flores 'Verde di Macerata' e 'Cheddar', apesar de pouco consumidas, podem ser boas fontes de carotenoides, provitaminicos

A e tocoferol na alimentação. Os cozimentos não afetaram negativamente o aspecto visual das couves-flores coloridas.

REFERÊNCIA

AHMED, J.; SHIVHARE, U. S.; KAUR, M. THERMAL COLOUR DEGRADATION KINETICS OF MANGO PUREE. **International Journal of Food Properties**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 359–366, 2002.

BALOGH, A. K., BUCKLE, K. A., & EDWARDS, R. A. Effect of processing variables on the quality of dehydrated carrot I. Leaching losses and carotenoid content. **Journal of Food Technology**, 12, p.285–293, 1977.

BERNHARDT, S.; SCHLICH, E. Impact of different cooking methods on food quality: Retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. **Journal of Food Engineering**, 77(2), p.327–333, 2006.

BERNI, P.; CHITCHUMROONCHOKCHAI, C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; MOURA, F. F.; FAILLA, M.L. Impact of genotype and cooking style on the content, retention, and bioaccessibility of β -carotene in biofortified cassava (*Manihot esculenta* Crantz) conventionally bred in Brazil. **J Agric Food Chem.**, 62:6677–6686, 2014.

BORGES, C. V.; MINATEL, I. O.; AMORIM, E. P.; BELIN, M. A. F.; GOMEZ-GOMEZ, H. A.; CORREA, C. R.; LIMA, G. P. P. Ripening and cooking processes influence the carotenoid content in bananas and plantains (*Musa* spp.). **Food Research International**, [s. l.], v. 124, n. August, p. 0–1, 2018.

CHUN, J.; LEE, J.; YE, L.; EXLER, J.; EITENMILLER, R. R. Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2–3), p.196–204, 2006.

COSTA, C.; ANTONUCCI, F.; MENESATTI, P. Shape Analysis of Agricultural Products: A Review of Recent Research Advances and Potential Application to Computer Vision. **Food and Bioprocess Technology**, [s. l.], v. 4, n. 5, p.673–692, 2011.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. *Fennema's Food Chemistry*. (4th ed.). Boca Raton, FL: CRC Press, 2008.

DAVEY, M. W., VAN DEN BERGH, I., MARKHAM, R., SWENNEN, R., KEULEMANS, J. Genetic variability in *Musa* fruit provitamin A carotenoids, lutein and mineral micronutrient contents. **Food Chemistry**, 115(3), p.806–813, 2009.

DE PEE, S.; WEST, C.E.; PERMAESIH, D.; MARTUTI, S.; MUHILAL; HAUTVAST, J.G.A.J. Increasing intake of orange fruits is more effective than increasing intake of

dark-green leafy vegetables in increasing serum concentrations of retinol and β -carotene in schoolchildren in Indonesia. **Am. J. Clin. Nutr.**, 68, p.1058–1067, 1998.

DOS REIS, L. C. R.; DE OLIVEIRA, V. R.; HAGEN, M. E. K.; JABLONSKI, A.; FLÔRES, S. H.; DE OLIVEIRA RIOS, A. Carotenoids, flavonoids, chlorophylls, phenolic compounds and antioxidant activity in fresh and cooked broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. Alphina F1). **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 63, p.177–183, 2015.

FERRUZZI, M. G.; BLAKESLEE, J. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. **Nutr Res**, v. 27, p.1–12, 2007.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R.E. in *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, R.E. Wrolstad (Ed.), John Wiley & Sons, New York, NY, p.1–13, 2001.

GROSSMAN, R. P.; WISENBLIT, J. Z. What we know about consumers' color choices. **Journal of Marketing Practice**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 78–88, 1996.

GUZMAN, I.; YOUSEF, G. G.; BROWN, A. F. Simultaneous Extraction and Quantitation of Carotenoids, Chlorophylls, and Tocopherols in Brassica Vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 60, p.7238–7244, 2012.

HART, D. J.; SCOTT, K. J. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 54, n. 1, p.101–111, 1995.

HE, J. A.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. Doyle, M. P., Klaenhammer, T. R., Eds. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, v. 1, p.163–186, 2010.

HENRY, L. K.; CATIGNANI, G. L.; SCHWARTZ, S. J. Oxidative degradation kinetics of lycopene, lutein, and 9-cis and all trans β -carotene. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 75, p.823–829, 1998.

IBRAHIM, K. E.; JUVIK, J. A. Feasibility for Improving Phytonutrient Content in Vegetable Crops Using Conventional Breeding Strategies: Case Study with Carotenoids and Tocopherols in Sweet Corn and Broccoli. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 57, p.4636–4644, 2009.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids: a report of the Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Use of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Washington, D.C.: National Academy of Sciences. 2000.

KNECHT, K.; SANDFUCHS, K.; KULLING, S. E.; BUNZEL, D. Tocopherol and tocotrienol analysis in raw and cooked vegetables: A validated method with emphasis on sample preparation. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 169, p.20–27, 2015.

LEE, S.; CHOI, Y.; SANG, H.; JUNSOO, J. Effect of different cooking methods on the content of vitamins and true retention in selected vegetables. **Food Science and Biotechnology**, v.27, n. 2, p. 333-342, 2018.

LEÓN, K.; MERY, D.; PEDRESCHI, F.; LEÓN, J. Color measurement in L*, a*, b* units from RGB digital images. **Food Research International**, [s. l.], v. 39, n. 10, p.1084–1091, 2006.

LESSIN, W. J.; CATIGANI, G. L.; SCHWARTZ, S. J. Quantification of cis-trans Isomers of Provitamin A Carotenoids in Fresh and Processed Fruits and Vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 45, n. 10, p.3728–3732, 1997.

LI, L.; LU, S.; COSMAN, K. M.; EARLE, E. D.; GARVIN, D. F.; O'NEILL, J. β -Carotene accumulation induced by the cauliflower Or gene is not due to an increased capacity of biosynthesis. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 67, n. 12, p.1177–1184, 2006.

LICHTENTHALER, H.K. **Chlorophylls and Carotenoids. Pigments of Photosynthetic Biomembranes**, 148, p.350–382, 1987.

LIMA, G. P. P.; COSTA, S. M.; MONACO, K. de A.; ULIANA, M. R.; FERNANDEZ, R. M.; CORREA, C. R.; VIANELLO, F.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; MINATEL, I. O. Cooking processes increase bioactive compounds in organic and conventional green beans. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [s. l.], v. 68, n. 8, p.919–930, 2017.

LO SCALZO, R.; GENNA, A.; BRANCA, F.; CHEDIN, M.; CHASSAIGNE, H. Anthocyanin composition of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis) and cabbage (*B. oleracea* L. var. capitata) and its stability in relation to thermal treatments. **Food Chemistry**, 107, p.136–144, 2008.

MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G. B.; ARTEÉS-HERNÁNDEZ, F.; GÓMEZ, P. A.; ARTÉS, F. Induced changes in bioactive compounds of kailan-hybrid broccoli after innovative processing and storage. **Journal of Funcional Foods**, [s. l.], v. 5, p.133–143, 2013.

MERCADANTE, A.Z. Carotenoids in foods: sources and stability during processing and storage. In: Socaciu S (ed) *Food colorants: chemical and functional properties*. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 213–235, 2007.

MINATEL, I. O.; BORGES, C. V.; FERREIRA, M. I.; GOMEZ, H. A. G.; CHEN, C.-Y. O.; LIMA, G. P. P. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. In: *Phenolic Compounds - Biological Activity*. [s.l.] : InTech, v. 2, p.64, 2017.

MULLER, H. Determination of the carotenoid content in selected vegetables and fruit by HPLC and photodiode array detection. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung A**, [s. l.], v. 204, n. 2, p.88–94, 1997.

MURADOR, D.C.; CUNHA, D.T.; ROSSO, V.V. Effects of cooking techniques on vegetable pigments: A meta-analytic approach to carotenoid and anthocyanin levels. **Food Research International**, 65, p.177–183, 2014.

MURILLO, E.; PLUMPTON, S. E.; GAUNT, J. K. The Properties and Distribution of α -Tocopherol Oxidase in Plants. **Biochemical Society Transactions**, [s. l.], v. 4, n. 3, p.486–487, 1976.

NISHA, P.; SINGHAL, R. S.; PANDIT, A. B. Kinetic Modelling of Colour Degradation in Tomato Puree (*Lycopersicon esculentum* L .). **Food and Bioprocess Technology**, [s. l.], v. 4, n. 5, p.781–787, 2011.

PACIULLI, M.; PALERMO, M.; CHIAVARO, E.; PELLEGRINI, N. Chlorophylls and Colour Changes in Cooked Vegetables. **Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health**, [s. l.], v. 1, p.703–719, 2018.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, [s. l.], v. 6, n. 1, p.36–60, 2013.

PEREIRA, A. C.; REIS, M. S.; SARAIVA, P. M. Quality Control of Food Products using Image Analysis and Multivariate Statistical Tools. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, [s. l.], v. 48, n. 2, p.988–998, 2009.

PIIRONEN, V.; SYVÄOJA, E.L.; VARO, P.; SALMINEN, K.; KOIVISTOINEN, P. Tocopherols and tocotrienols in finish foods: Vegetables, fruits, and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 34(4), p.742–746, 1986.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 40, n. 1, p.1–11, 2007.

PRETI, R.; RAPA, M.; VINCI, G. Effect of steaming and boiling on the antioxidant properties and biogenic amines content in green bean (*Phaseolus vulgaris*) varieties of different colours. **Journal of Food Quality**, [s. l.], v. 2017, 2017.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A. Y., M., RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying An Improved Abts Radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, 26(98), p.1231–1237, 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. International Life Sciences Institute, ILSI Press: Washington, DC, 2001.

RUNDRA, S. G.; SARKAR, B. C.; SHIVHARE, U. S. Thermal degradation kinetics of chlorophyll in pureed coriander leaves. **Food Bioprocess Technol**, v. 1, p.91–99, 2008.

SHARDELL, M. D.; ALLEY, D. E.; HICKS, G. E.; EL-KAMARY, S. S.; MILLER, R. R.; SEMBA, R. D.; FERRUCCI, L. Low-serum carotenoid concentrations and carotenoid interactions predict mortality in US adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Nutrition Research**, [s. l.], v. 31, n. 3, p.178–189, 2011.

SILVA, M.B. DA; RODRIGUES, L.F.O.S.; ROSSI, T.C.; VIEIRA, M.C.S.; MINATEL, I.O.; LIMA, G.P.P. Effects of boiling and oil or vinegar on pickled jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) fruit. **Afr. J. Biotechnol**, 15(6), p.125-133, 2016.

SIRIAMORNUN, S.; KAISOON, O.; MEESO, N. Changes in colour, antioxidant activities and carotenoids (lycopene, β -carotene, lutein) of marigold flower (*Tagetes erecta* L.) resulting from different drying processes. **Journal of Functional Foods**, 4, p.757-766, 2012.

TANSEY, F.; GORMLEY, R.; BUTLER, F. The effect of freezing compared with chilling on selected physico-chemical and sensory properties of sous vide cooked carrots. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 11, n. 1, p.137-145, 2010.

VAN HET HOF, K.H.; WEST, C.E.; WESTSTRATE, J.A.; HAUTVAST, J.G. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. **J. Nutr.**, 130, p.503-506, 2000.

VISHNEVETSKY, M., OVADIS, M., VAINSTEIN, A. Carotenoid sequestration in plants: the role of carotenoid-associated proteins. **Trends Plant Sci.**, 4, p.232-235, 1999.

VOLDEN, J., BORGE, G.I.A., HANSEN, M., WICKLUND, T., BENGTSSON, G.B. Processing (blanching, boiling, steaming) effects on the content of glucosinolates and antioxidant-related parameters in cauliflower (*Brassica oleracea* L. ssp. botrytis). **LWT - Food Sci. Technol.**, 42, p.63-73, 2009.

XU, F.; ZHENG, Y.; YANG, Z.; CAO, S.; SHAO, X.; WANG, H. Domestic cooking methods affect the nutritional quality of red cabbage. **Food Chemistry**, 161, p.162-167, 2014.

YANG, S. F.; ROBERTS, J. E.; LIU, Q. H.; PANG, J.; SARNA, T. Zeaxanthin and lutein in the management of eye diseases. **Journal of ophthalmology**, 2016.

YEUM, K.J., RUSSELL, R. M. **Carotenoid bioavailability and bioconversion**. Annual Review of Nutrition, 22(1), p.483-504, 2002.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A couve-flor é uma das hortaliças mais consumidas no mundo, e isso se atribui ao elevado rendimento comercial da cultura. No Brasil, sua importância econômica está ligada especialmente a pequenos produtores. Além do valor comercial, esta espécie é muito apreciada na culinária, devido ao baixo valor calórico, sabor suave, e a presença de compostos promotores de saúde humana. Os genótipos mais consumidos, e geralmente produzidos, são os de coloração branca, e informações sobre cultivo de couves-flores coloridas (amarela, roxa e verde) pouco são divulgadas, ou encontradas. Além deste aspecto, poucas informações nutricionais ou sobre os benefícios da ingestão de couves-flores coloridas são publicadas.

O uso de inflorescências coloridas surge com uma alternativa na busca para a diversificação da dieta e aumento da ingestão de compostos bioativos, e buscamos neste estudo estimular ao consumo destas hortaliças por meio de evidências que comprovem a presença de nutrientes e/ou compostos biologicamente ativos nas diferentes cores. Outro ponto ponderado foi que a ingestão deste vegetal é realizado após algum tipo de processamento térmico, dessa forma foram realizadas as cocções dos materiais pensando em métodos caseiros, com diferentes tempos de exposição do vegetal ao calor, comparando assim a ação do cozimento com o vegetal cru.

Neste estudo podemos concluir que os genótipos possuem grande variabilidade em suas características bioquímicas (Capítulo 1, 2 e 3). Constatamos variação no teor dos compostos químicos, dependendo da couve-flor analisada e do processamento térmico empregado (Capítulo 1), mostrando que algumas características foram mantidas com uso de cozimento a vapor e micro-ondas, e.g. Além disso, foram observados que estes genótipos coloridos se sobressaíram aos de coloração brancas em relação a importantes fitoquímicos, como conteúdo de aminoácidos (triptofano e 5-hidroxitriptofano), aminas biogênicas, carotenoides, provitamicos A e tocoferol (Capítulo 2 e 3), com destaque aso materiais 'Cheddar' e 'Verde di macerata' para esses compostos. Estes resultados demonstram que genótipos estudados possuem boa qualidade pós-colheita, e que o cozimento favorece o aumento dos compostos bioativos presentes nas inflorescências. Por meio destes resultados, esperamos estimular o consumo, bem como a produção dessas hortaliças, levando em consideração sua alta qualidade nutricional, assim como elucidar que o preparo para

o consumo das couves-flores deve ser levado em consideração para manutenção de suas propriedades antioxidantes.

REFERÊNCIAS

- AHMED, F. A.; ALI, R. F. M. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Fresh and Processed White Cauliflower. **BioMed Research International**, v. 1, p.1-9, 2013.
- AHMED, J.; SHIVHARE, U.S.; DEBNATH, S. Colour degradation and rheology of green chilli puree during thermal processing. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p.57–63, 2002.
- ARMESTO, J.; GÓMEZ-LIMIA, L.; CARBALLO, J.; MARTÍNEZ, S. Effects of different cooking methods on some chemical and sensory properties of Galega kale. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p.2071-2080, 2016.
- BERNHARDT, S.; SCHLICH, E. Impact of different cooking methods on food quality: Retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p.327-333, 2006
- BORGES, C. V.; MINATEL, I. O.; AMORIM, E. P.; BELIN, M. A. F.; GOMEZ-GOMEZ, H. A.; CORREA, C. R.; LIMA, G. P. P. Ripening and cooking processes influence the carotenoid content in bananas and plantains (*Musa* spp.). **Food Research International**, v. 0, p.0, 2018.
- CHIU, L.W.; ZHOU, X.; BURKE, S.; WU, X.; PRIOR, R. L.; LI, L. The Purple Cauliflower Arises from Activation of a MYB Transcription Factor. **Plant Physiology**, v. 154, n. 3, p.1470–1480, 2010.
- CHUN, J.; LEE, J.; YE, L.; EXLER, J.; EITENMILLER, R. R. Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, n. 2, p.196–204, 2006.
- COSTA, C.; ANTONUCCI, F.; PALLOTTINO, F.; AGUZZI, J.; SUN, D.; MENESATTI, P. Shape analysis of agricultural products: a review of recent research advances and potential application to computer vision. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 5, p.673–692, 2011.
- CRISP, P.; WALKEY, D. G. A.; BELLMAN, E.; ROBERTS, E. A mutation affecting curd colour in cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis DC). **Euphytica**, v. 24, p.173–176, 1975.
- DIAMANTE, M. S.; BORGES, C. V.; SILVA, M. B.; MINATEL, I. O.; CORRÊA, C. R.; GOMEZ-GOMEZ, H. A.; LIMA, G. P. P. Bioactive Amines Screening in Four Genotypes of Thermally Processed Cauliflower. **Antioxidants**, v. 8, p.1-16, 2019.
- DICKSON, M. H.; LEE, C. Y.; BLAMBLE, A. E. Orange-curd high carotene cauliflower inbreds, NY 156, NY 163, and NY 165. **Hortscience**, v.23, p.778–779, 1988.
- DOS REIS, L. C. R.; DE OLIVEIRA, V. R.; HAGEN, M. E. K.; JABLONSKI, A.; FLÔRES, S. H.; DE OLIVEIRA RIOS, A. Carotenoids, flavonoids, chlorophylls, phenolic compounds and antioxidant activity in fresh and cooked broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. Alphina F1). **LWT** -

Food Science and Technology, v. 63, n. 1, p.177–183, 2015.

FRANCIS, F. J. Quality as influenced by color. **Food Quality and Preference**, v. 6, n. 3, p.149–155, 1995.

FRANCISCO, M.; VELASCO, P.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C.; CARTEA, M. E. Cooking methods of Brassica rapa affect the preservation of glucosinolates, phenolics and vitamin C. **Food Research International**, v. 43, p.1455–1463, 2010.

GOMEZ-GOMEZ, H. A.; BORGES, C. V.; MINATEL, I. O.; LUVIZON, A. C.; LIMA, G. P. P. Health Benefits of Dietary Phenolic Compounds and Biogenic Amines. **Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry**, p.1–25, 2018.

GROSSMAN, R. L.; WISENBLIT, J. Z. What we know about consumers' color choices. **Journal of Marketing Practice: Applied Marketing Science**, v. 5, n. 3, p.78–88, 1999.

GUILLEN, S.; MIR-BEL, J.; ORIA, R.; SALVADOR, M. L. Influence of cooking conditions on organoleptic and health-related properties of artichokes, green beans, broccoli and carrots. **Food Chemistry**, v. 217, p.209-216, 2017.

GUZMAN, I; YOUSEF, G. G.; BROWN, A. F. Simultaneous Extraction and Quantitation of Carotenoids, Chlorophylls, and Tocopherols in Brassica Vegetables. **J. Agric. Food Chem**, v. 60, p.7238–7244, 2012.

IBRAHIM, K.E.; JUVIK, J.A. Feasibility for improving phytonutrient content in vegetable crops using conventional breeding strategies: case study with carotenoids and tocopherols in sweet corn and broccoli. **J. Agric. Food Chem.**, v. 57, p.4636–4644, 2009.

JAHANGIR, M.; KIM, H.K.; CHOI, Y.H.; VERPOORTE, R. Health-affecting compounds in Brassicaceae. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.**, v. 8, p.31–43, 2009.

KALISZ, A.; SEKARA, A.; SMOLEŃ, S.; GRABOWSKA, A.; GIL, J.; CEBULA, S. Mineral composition of cauliflowers with differently coloured curds modified by the chilling of juvenile plants. **Scientia Horticulturae**, v. 232, p.216–225, 2018.

KNECHT, K.; SANDFUCHS, K.; KULLING, S.E.; BUNZEL, D. Tocopherol and tocotrienol analysis in raw and cooked vegetables: A validated method with emphasis on sample preparation. **Food Chemistry**, v. 169, p.20–27, 1986

KRAMER, A. Use of colour measurements in quality control of food. **Food Technology**, v. 30, p.62–64, 1976.

LEON, K.; MERY, D.; PEDRESCHI, F.; LEON, J. (2006). Color measurement in L* a* b* units from RGB digital images. **Food Research International**, v. 39, n. 10, p.1084–1091, 2006.

LESSIN, W. J.; CATIGANI, G. L.; SCHWARTZ, S. J. Quantification of cis-trans Isomers of Provitamin A Carotenoids in Fresh and Processed Fruits and Vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 45, n. 10, p. 3728–3732, 1997.

LI, L.; LU, S.; COSMAN, K. M.; EARLE, E. D.; GARVIN, D. F.; O'NEILL, J. β -Carotene accumulation induced by the cauliflower Or gene is not due to an increased capacity of biosynthesis. **Phytochemistry**, v. 67, p.1177–1184, 2006.

LIMA, G. P. P.; COSTA, S. M.; MONACO, K. de A.; ULIANA, M. R.; FERNANDEZ, R. M.; CORREA, C. R.; VIANELLO, F.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; MINATEL, I. O. Cooking processes increase bioactive compounds in organic and conventional green beans. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 68, n. 8, p.919–930, 2017.

LO SCALZO, R.; GENNA, A.; BRANCA, F.; CHEDIN, M.; CHASSAIGNE, H. Anthocyanin composition of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis) and cabbage (*B. oleracea* L. var. capitata) and its stability in relation to thermal treatments. **Food Chemistry**, v. 107, p.136–144, 2008.

MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G. B.; ARTÉS-HERNÁNDEZ, F.; GÓMEZ, P. A.; ARTÉS, F. Induced changes in bioactive compounds of kailan-hybrid broccoli after innovative processing and storage. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p.3-43, 2013.

MIGLIO, C.; CHIAVARO, E.; VISCONTI, A.; FOGLIANO, V.; PELLEGRINI, N. Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 56, p.139–147, 2008.

MINATEL, I. O.; BORGES, C. V.; FERREIRA, M. I.; GOMEZ, H. A. G.; CHEN, C.-Y. O.; LIMA, G. P. P. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. In: **Phenolic Compounds - Biological Activity**, InTech, v. 2, p. 64, 2017.

MURILLO, E.; PLUMPTON, S. E.; GAUNT, J. K. The Properties and Distribution of α -Tocopherol Oxidase in Plants. **Biochemical Society Transactions**, v. 4, n. 3, p.486-487, 1976.

NISHA, P.; SINGHAL, R. S.; PANDIT, A. B. Kinetic modelling of colour degradation in tomato puree (*Lycopersicon esculentum* L.). **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p.781–787, 2011.

PACIULLI, M.; PALERMO, M.; CHIAVARO, E.; PELLEGRINI, N. Chlorophylls and Colour Changes in Cooked Vegetables. **Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health**, v. 1, p.703-719, 2018.

PALERMO, M., PELLEGRINI, N., FOGLIANO, V. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. **J. Sci. Food Agric.**, v. 94, p.1057–1070, 2014.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food Bioprocess Technol**, v. 6, p.36-60, 2012.

PELLEGRINI, N., CHIAVARO, E., GARDANA, C., MAZZEO, T., CONTINO, D., GALLO, M., RISO, P., FOGLIANO, V., PORRINI, M. Effect of different cooking methods on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and

frozen brassica vegetables. **J. Agric. Food Chem.**, v. 58, p.4310–21, 2010.

PEREIRA, A. C.; REIS, M. S.; SARAIVA, P. M. Quality control of food products using image analysis and multivariate statistical tools. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 48, n. 2, p.988–998, 2009.

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

PRETI, R.; RAPA, M.; VINCI, G. Effect of steaming and boiling on the antioxidant properties and biogenic amines content in green bean (*Phaseolus vulgaris*) varieties of different colours. **Journal of Food Quality**, v. 2017, 2017.

RENNIE, C., WISE, A. Preferences for steaming of vegetables. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**. v. 23, p.108-110, 2009.

RUNDRÁ, S.G.; SARKAR, B.C.; SHIVHARE, U.S. Thermal degradation kinetics of chlorophyll in pureed coriander leaves. **Food Bioprocess Technol**, v.1, p.91–99, 2008.

SALAZAR-GONZÁLEZ, C.; MARTÍN-GONZÁLEZ, M. F. S.; LÓPEZ-MALO, A.; SOSA-MORALES, M. E. Recent Studies Related to Microwave Processing of Fluid Foods. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p.31–46, 2012.

SHAMS EL-DIN, M. H. A.; ABDEL-KADER, M. M.; MAKHLOUF, S. K.; MOHAMED, O. S.S. Effect of some cooking methods on natural antioxidants and their activities in some Brassica vegetables. **World Appl. Sci. J.**, v. 26, p.697–703, 2013.

SHARDELL, M. D.; ALLEY, D. E.; HICKS, G. E.; EL-KAMARY, S. S.; MILLER, R. R.; SEMBA, R. D.; FERRUCCI, L. Low-serum carotenoid concentrations and carotenoid interactions predict mortality in US adults : the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Nutrition Research**, v.31, n.3, p.178-189, 2011.

TANSEY, F.; GORMLEY, R.; BUTLER, F. The effect of freezing compared with chilling on selected physico-chemical and sensory properties of sous vide cooked carrots. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p.137-145, 2010.

WACHTEL-GALOR, S.; WONG, K. W.; BENZIE, I. F. F. The effect of cooking on Brassica vegetables. **Food Chemistry**, v. 110, p.706–710, 2008.

ZHOU, H. C., LIN, Y. M., LI, Y. Y., LI, M. M., WEI, S. D., CHAI, W. M., TAM, N. F. Y. Antioxidant properties of polymeric proanthocyanidins from fruit stones and pericarps of *Litchi chinensis* Sonn. **Food Research International**, v. 44, n. 2, p.613–620, 2011.

APÊNDICE A – Tabelas de correlação

Tabela 5. Matriz de correlação de Spearman entre os carotenoides, provitamínicos A e atributos de cor (L^* , C^* e h°) em couves-flores coloridas cruas e processadas termicamente.

Variáveis	Luteína	Zeaxantina	t-Criptoxantina	t- α -Caroteno	t- β -Caroteno	Σ pVACs	RAE	Σ Caroteno	L^*	C^*	h°
Luteína	1	0,932	0,865	0,808	0,846	0,848	0,846	0,869	-0,199	0,573	0,014
Zeaxantina	0,932**	1	0,847	0,780	0,837	0,839	0,836	0,863	-0,157	0,553	0,030
t-Criptoxantina	0,865	0,847	1	0,959	0,951	0,953	0,952	0,969	-0,092	0,672	-0,199
t- α -Caroteno	0,808	0,780	0,959	1	0,950	0,952	0,951	0,96	-0,067	0,741	-0,276
t- β -Caroteno	0,846	0,837	0,951	0,95	1	0,999	1	0,992	0,018	0,777	-0,335
Σ pVACs	0,848	0,839	0,953	0,952	0,999	1	1	0,992	0,010	0,775	-0,329
RAE	0,846	0,836	0,952	0,951	1	1	1	0,991	0,016	0,778	-0,337
Σ Caroteno	0,869	0,863	0,969	0,96	0,992	0,992	0,991	1	-0,044	0,752	-0,279
L^*	-0,199	-0,157	-0,092	-0,067	0,018	0,01	0,016	-0,044	1	0,24	-0,678
C^*	0,573	0,553	0,672	0,741	0,777	0,775	0,778	0,752	0,24	1	-0,638
h°	0,014	0,03	-0,199	-0,276	-0,335	-0,329	-0,337	-0,279	-0,678	-0,638	1

**Valores em negrito são diferentes de 0 com um nível de significância alfa = 0,05

Tabela 6. Matriz de correlação de Spearman entre o conteúdo de ABTS e carotenoides, pro vitamínicos A, tocoferol, atributos de cor em couve-flor colorida crua e processada termicamente.

ABTS in cauliflower	Lut	Zea	pVACs			Σ pVACs	Σ Carot	RAE	α -toco	γ -toco	Σ Toco	L^*	C^*	TC	TA
			t- Cript	t- α -C	t- β -C										
VM ^a	-0.32	-0.38	-0.43	-0.20	-0.531	-0.53	-0.49	-0.53	-0.14	-0.20	-0.18	0.26	-0.52	0.30	-
C ^b	0.62**	0.14	0.21	0.07	0.07	0.037	0.08	0.06	-0.04	0.61	0.56	0.09	0.08	-	-
F ^c	0.72	0.55	0.58	0.30	0.40	0.40	0.47	0.40	0.53	0.59	0.51	0.14	-0.07	-	-
G ^d	-0.76	-0.21	-0.54	-0.66	-0.68	-0.68	-0.74	-0.68	-0.77	-0.69	-0.70	-0.64	0.47	-	0.51

** Valores em negrito são diferentes de 0 com um nível de significância alfa = 0,05

^aVM - 'Verde di Macerata'; ^bC - 'Cheddar'; ^cF - 'Forata'; ^dG - 'Graffiti'

Lut = lutein; Zea = zeaxanthin; t- Cript = t- Criptoxanthin; t- α -C = t- α -Carotene; t- β -C = t- β -Carotene; pVACs = pro vitamins; Σ pVACs = sum of pro vitamins; Σ Carotenoids = sum of carotenoids; RAE = retinol activity equivalents; α -toco = α -tocopherol; γ -toco = γ -tocopherol; Σ Toco = Σ Tocopherol; L^* = lightness; C^* = chroma; TC = total chlorophyll; TA = total anthocyanin