



**ANTIOXIDANTES EM PÓS-COLHEITA DE *Brassica oleracea* var. *Italica*  
CULTIVADA EM SISTEMA ORGÂNICO E CONVENIONAL SUBMETIDOS  
A TRATAMENTOS DE SANITIZAÇÃO E ENZIMAS OXIDATIVAS EM  
DIFERENTES VARIEDADES DE *Chicorium intybus* L.**

**TATIANA MARQUINI MACHADO**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,  
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção  
do título de Doutor em Ciências Biológicas I  
(Botânica)

**BOTUCATU – SP**

**2012**



**unesp**

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



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**“Julio de Mesquita Filho”**

**INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU**

**ANTIOXIDANTES EM PÓS-COLHEITA DE *Brassica oleracea* var. *Italica*  
CULTIVADA EM SISTEMA ORGÂNICO E CONVENIONAL SUBMETIDOS  
A TRATAMENTOS DE SANITIZAÇÃO E ENZIMAS OXIDATIVAS EM  
DIFERENTES VARIEDADES DE *Chicorium intybus* L.**

**TATIANA MARQUINI MACHADO**

**PROF<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA**

**ORIENTADORA**

**PROF. Dr. FABIO VIANELLO**

**PROF<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> LUCIANA FRANCISCO FLEURI**

**CO-ORIENTADORES**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,  
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção  
do título de Doutor em Ciências Biológicas I  
(Botânica)

**BOTUCATU – SP**

**2012**

**Aos meus pais Neoclaire e Iraci pelo amor,  
paciência, apoio e por acreditarem em mim  
durante a minha vida.**

**DEDICO**

**A Deus, sempre presente,**

**Aos meus irmãos, Gislaine e Thiago, como  
homenagem,**

**OFEREÇO.**

**“Tudo está em tudo”.**

**Allan Kardec**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por nos permitir a existência, a evolução e aprendizagem.

Aos meus pais, exemplos de vida. Dotados de força, luz, amor, compreensão que impulsionaram seus filhos para a vida.

Aos meus irmãos, Gi e Thiago por compartilharem excelentes momentos no decorrer desses anos.

Aos meus avôs maternos, Ernesto e Angelina (*in memorian*) e aos avôs paternos Jair e Genoveva (*in memorian*) por terem concedidos meus pais e o que eles representam para mim.

A minha orientadora Professora Dr<sup>a</sup>. Giuseppina Pace Pereira Lima pela valiosa orientação, compreensão e amizade adquiridas durante a realização desse trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Fabio Vianello pela oportunidade do doutorado sanduiche, a amizade e orientação durante meu trabalho na Università Degli Studi di Padova, Itália.

A minha co-orientadora Professora Dr<sup>a</sup>. Luciana Francisco Fleury pelos ensinamentos.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Margarida Juri Saeki, pela companhia compartilhada e a amizade.

Ao meu grupo de trabalho e amigos: Natália Reis Furtado, Luciana Manoel, Luisa Maria de S. Fernandes, Suraya Abdallah da Rocha, Luciana da S. Borges, Marinês P. Bomfim e Luiz Claudio Correa pelo carinho e crescimento pessoal.

Aos amigos e colegas que adquiri nesses dois anos de trabalho: Magali, Suraya, Milena Borguini, Marina Cassani, José, Marizete, João Vitor, Mariana Lozano, Daniele, Graciete, Sergio, Rozeli e Bruno pelos momentos de descontração e ajuda proporcionados.

Aos funcionários do Departamento de Botânica, José Eduardo, Kleber, Maria Helena, Inara e Auro pelo auxílio e amizade.

Aos Professores Doutores do Departamento de Botânica, João Domingos, Carmen, Sílvia e Gisela pelos ensinamentos e conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica do IB, Rafael, Gabriela, Elaine, Lourdes, Ivalde e Fabio pela simpatia, afeição e assistência.

Ao Instituto de Biociências do Campus de Botucatu – UNESP, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação.

Aos funcionários da Pós-Graduação do IB, Herivaldo, Luciane e David pelo apoio administrativo e companheirismo.

À CAPES, pelo auxílio financeiro concedido para a realização do Curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica) do Instituto de Biociências, Campus de Botucatu – UNESP.

À CNPQ Edital Universal pelo financiamento do projeto.

## Sumário

Resumo.....	1
Abstract.....	2
Introdução.....	3
Revisão Bibliográfica.....	5
<b>Capítulo I.....</b>	<b>22</b>
Influência da sanitização na qualidade de brócolis orgânicos e convencionais.....	
Resumo.....	23
Abstract.....	23
Introdução.....	24
Material e Métodos.....	26
Resultados e Discussão.....	31
Conclusão.....	42
Referências.....	42
<b>Capítulo II.....</b>	<b>51</b>
Efeito da água ozonizada e clorada na pós-colheita de brócolis orgânicos e convencionais.....	
Resumo.....	52
Abstract.....	52
Introdução.....	53
Material e Métodos.....	55
Resultados e Discussão.....	59
Conclusão.....	68
Referências.....	69
<b>Capítulo III.....</b>	<b>75</b>
Atividade de enzimas oxidativas na qualidade de diferentes variedades de <i>radicchio</i> .....	
Resumo.....	76
Abstract.....	77
Introdução.....	77
Material e Métodos.....	79
Resultados e Discussão.....	81
Conclusão.....	84
Referências.....	84
Considerações Finais.....	87

Referências.....	88
Anexos.....	104



**MACHADO, S. A. Antioxidantes em pós-colheita de *Brassica oleracea* var. *Italica* cultivada em sistema orgânico e convencional submetidos a tratamentos de sanitização e enzimas oxidativas em diferentes variedades de *Chicorium intybus* L., 2012. 112 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu.**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Giuseppina Pace Pereira Lima

Co-orientadores: Prof. Dr. Fabio Vianello

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Francisco Fleury

## **Resumo**

Este trabalho objetivou determinar o efeito de diversos tratamentos de sanitização na qualidade físico-química, fitossanitária e o teor de antioxidantes (poliaminas, fenóis, flavonóides, ácido ascórbico, clorofila) além do potencial antioxidante de brócolis orgânicos e convencionais e qualidade enzimática de trinta e uma variedades de *radicchio*. Os brócolis orgânicos e convencionais foram adquiridos de produtores locais do município de Botucatu/SP. Os vegetais foram lavados, higienizados com água clorada e ozonizada por 5 e 10 minutos e armazenados em câmara fria a  $6\pm 1^{\circ}\text{C}$  por sete dias. As coletas foram realizadas a cada três dias. O modo de cultivo aliado aos tratamentos de lavagem influenciou significativamente AT e os SS. Os tratamentos com água ozonizada por 5 e 10' foram eficazes na diminuição da carga microbiana nos brócolis tratados. Não houve influencia do modo de cultivo nos teores de Cu, Zn e Mn. O uso do ozônio não alterou as qualidades físico-químicas dos brócolis, independente do modo de cultivo, o que pode ser promissor, como alternativa para uso como sanitizante. Houve influencia dos tratamentos de sanitização no período de avaliação para os antioxidantes, poliaminas e capacidade antioxidante nos brócolis orgânicos e convencionais. Os brócolis orgânicos apresentaram maiores teores de antioxidantes. Verificou-se que as variedades T e T 506 Chioggia e Chioggia "706" foram as que apresentaram maior atividade enzimática. A variedade Castellano Lucrezia apresentou maior atividade da polifenoloxidase. Para o teor de proteínas solúveis totais a 5070 F1 Chioggia foi a variedade que apresentou maior teor de proteínas solúveis totais.

**Palavras-chave:** antioxidantes, ozônio, *radicchio*, DPPH, *Brassica oleracea* var. *Italica*, poliaminas

**MACHADO, S. Antioxidants in post-harvest of *Brassica oleracea* var. *Italica* cultivated in organic and conventional systems submitted to sanitization treatments and oxidative enzymes in different varieties of *Cichorium intybus* L., 2012. 112 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu.**

Advisor: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Giuseppina Pace Pereira Lima

Co-advorsors: Prof. Dr. Fabio Vianello

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Francisco Fleury

### **Abstract**

This study investigated the effect of various sanitization treatments on the physico-chemical, plant and content of antioxidants (polyamines, phenols, flavonoids, ascorbic acid, chlorophyll) addition of the antioxidant potential of organic and conventional broccoli and quality of enzymatic thirty-one varieties of radicchio. The organic and conventional broccoli were purchased from local producers of Botucatu / SP. The vegetables were washed, sanitized with chlorinated water and ozonated for 5 and 10 minutes and stored in cold storage at  $6 \pm 1$  ° C for seven days. Samples were collected every three days. The cultivation methods together with the washing treatments significantly affected TA and SS. The treatments with ozonated water for 5 and 10 'were effective at reducing the microbial load in broccoli treated. There was no influence of cultivation methods for Cu, Zn and Mn. The use of ozone did not change the physico-chemical quality of broccoli, regardless of the method of cultivation, which can be promising alternative for use as a sanitizer. There was influence of sanitation treatments during evaluation for antioxidants, polyamines and antioxidant capacity in organic and conventional broccoli. The organic broccoli showed higher levels of antioxidants. It was found that the peroxidase activity was higher in the varieties T and T 506 and Chioggia Chioggia "706". In the variety Castellano Lucrezia was obtained the highest activity of polyphenyloxidase. For the total soluble protein content, the 5070 F1 Chioggia variety showed the highest content of total soluble proteins.

**Keywords:** antioxidants, ozone, radicchio, DPPH, *Brassica oleracea* var. *Italica*, polyamines

## Introdução

A promoção da saúde com qualidade de vida e a busca por uma alimentação saudável têm sido metas a serem alcançadas neste século. E essa preocupação dos consumidores por adquirem alimentos saudáveis leva a questão do consumo de produtos hortícolas de boa qualidade. Além disso, há um aumento na procura por alimentos produzidos de forma orgânica, isto é, livres de fertilizantes químicos, antibióticos, hormônios entre outros (Archanjo et al., 2001).

As práticas de manejo orgânico excluem o uso de pesticidas sintéticos e fertilizantes solúveis e dão ênfase à melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo, através da adição de compostos orgânicos e esterco, no controle biológico de pragas e doenças, na rotação de culturas e no consórcio com a criação de animais (Reganold et al., 2000).

Atualmente, a procura por vegetais de origem orgânica tem se intensificado por diversos fatores, entre os quais, como comentado, a ausência de pesticidas e principalmente, por alguns estudos apontarem maiores teores de substâncias benéficas à saúde em vegetais oriundos de cultivo orgânico, como vitamina C, compostos fenólicos, glicosinolatos, entre outros (Lima; Vianello, 2011). Entre os vegetais que apresentam essa característica e é muito apreciado e consumido, encontra-se o brócoli.

A procura por essa hortaliça se deve ao fato de ser rico em vitaminas, antioxidantes, compostos anti-carcinogênicos e fitoquímicos, substâncias consideradas promotoras da saúde (Nat et al., 2011). Contudo, o brócoli é altamente perecível, com uma vida-útil curta, de apenas poucos dias. As cabeças de brócolis se deterioram rapidamente após a colheita e para evitar perdas, baixas temperaturas (0-4°C) e uma alta umidade relativa do ar (98-100%) são requeridas para manter a qualidade pós-colheita (Schouten et al., 2009). O armazenamento em atmosfera controlada é um método usualmente recomendado para manter a qualidade do brócoli (Yuan et al., 2010).

Entretanto, durante o armazenamento refrigerado a ação de agentes microbiológicos pode diminuir a vida de prateleira de produtos hortícolas. É comum o uso de sanitizantes para a prevenção da proliferação microbiana. Um dos mais utilizados é o hipoclorito de sódio por ser barato e de fácil obtenção. Porém, seu uso foi reduzido em virtude do potencial de perigo por gerar substâncias cancerígenas (trihalometanos –

THMs). Os THMs são formados quando em contato direto do cloro na água com ácidos húmicos e fúlvicos, produtos da decomposição da matéria orgânica (Pereira et al., 2006). Além disso, a legislação de produtos orgânicos não permite o uso do cloro, devido a formação dos subprodutos, assim, pesquisas sobre o uso de sanitizantes alternativos se tornam necessárias.

Uma boa alternativa para a substituição a utilização de hipoclorito de sódio ou cálcio para frutas e vegetais é o uso do ozônio. O ozônio destrói os micro-organismos pela progressiva oxidação dos componentes vitais da célula (Barboni et al., 2010). O uso de ozônio em forma de gás ou dissolvido em água é justificado ao fato que promove a inativação do crescimento carga bacteriana, a prevenção de ataque de fungos, destruição de resíduos químicos e pesticidas e controle de pragas no armazenamento (Öztekin et al., 2006). A diminuição de patógenos incluindo *Salmonella typhimurium*, *Yersina enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *E.colli. coli* O157:H7 tem sido descritas após a utilização do ozônio como sanitizante (Selma et al., 2008).

## **Objetivos**

Determinar através de análises bioquímicas, a qualidade nutricional durante a pós-colheita de brocólí (*Brassica oleracea* L. cv *Italica*) cultivadas de modo orgânico e convencional, submetido a sanitização com ozônio.

## **Objetivos específicos**

1. Determinar os teores compostos antioxidantes, como poliaminas, flavonóides totais, fenóis totais, vitamina C e clorofila, além de potencial antioxidante do vegetal (DPPH•) de brocólí (*Brassica oleracea* L. *Italica*) oriundos de cultivo orgânico e convencional;
2. Determinar qualitativamente alguns pesticidas em brocólí (*Brassica oleracea* L. cv *Italica*) oriundos de cultivo orgânico e convencional;
3. Avaliar a qualidade microbiológica do brocólí (*Brassica oleracea* L. cv *Italica*) oriundos de cultivo orgânico e convencional.
4. Determinar as atividades das enzimas de oxirredução peroxidase e polifenoloxidase em radicchio (*Cichorium intybus* L. cv. *rubifolium*).

## Revisão de Literatura

### Caracterização botânica das espécies estudadas

#### *Brassica oleracea* L. cv. *Italica*

O brócoli é uma hortaliça de inflorescência, originária da região do Mediterrâneo, pertencente à família *Brassicaceae*, assim como a couve-comum, a couve-flor, o repolho, a mostarda, o rabanete e o agrião. (EMBRAPA, 2011). A primeira descrição de brócolis, também conhecido como brocolo, couve-brocolos e couve-brocolis, foi feita por Dalechamp, no século XVI. Relatos anteriores não são conclusivos, visto que, o termo “brocoli”, de origem italiana, designava originalmente ramificações laterais de varias espécies do gênero *Brassica* utilizadas na alimentação (Nieuwhof, 1969). A planta foi originada pela seleção e acumulo de mutações ocorridas durante o processo de domesticação de *B. sylvestris*, encontrada na região do Mediterrâneo, principalmente na Itália (Gray, 1982).

O brócoli é uma hortaliça com poucas calorias e possui considerável teor de vitamina C. Seu teor de vitamina A é elevado quando comparado ao repolho e a couve-flor, mas inferior ao da couve-comum. Também é fonte de fósforo, ferro, cálcio e fibras. Os teores de cálcio são próximos ao do espinafre, com a vantagem de serem mais digestíveis no caso do brócoli (EMBRAPA, 2011).

Os vegetais da família *Brassicaceae*, como os repolhos, couves-flores e os brócolis possuem propriedades anticarcinogênicas e antioxidativa. Além de serem possuírem considerável atividade antioxidante, tem sido usado em tratamento durante o câncer. Este efeito protetor tem sido largamente atribuído ao complemento de fitoquímicos em brócolis, que incluem as vitaminas C e E, flavonóis como a quercetina e kaempferol, os carotenóides como  $\beta$ -caroteno e luteína e os glucosinolatos (Podsędek, 2007).

Muitos fatores influenciam a qualidade de brócolos antes do consumo. O brócolis normalmente é colhido entre 4 e 28 semanas, dependendo da época. Quando ocorre a colheita, os brócolis apresentam uma vasta gama de compostos químicos diferentes (por exemplo, água, hidratos de carbono, lipídios, proteínas, etc.) e como ainda é metabolicamente ativo, ocorreram contínuas alterações na sua composição até a senescência (Raseetha et al., 2011).

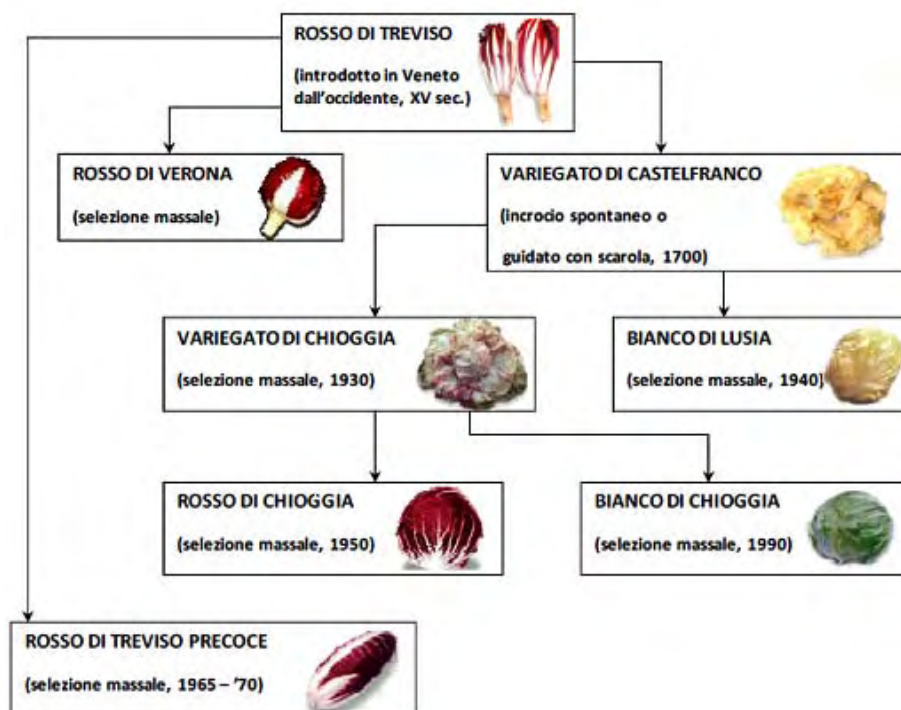
Os brócolis são altamente perecíveis, e a sua senescência é indicada pela perda de clorofila e amarelecimento das inflorescências. Na colheita, o processo catabólico leva a degradação de proteínas com liberação e acumulação de aminoácidos, a degradação de clorofilas, peroxidação lipídica, entre outras, resultando em menor qualidade nutricional (Hansen et al., 2001; Hasperaú et al., 2011).

### **Caracterização botânica da *Cichorium intybus* L. grupo *rubifolium***

O *radicchio* (*Cichorium intybus* L. grupo *rubifolium*) é um vegetal da família *Asteraceae* e gênero *Chicorium* e caracteriza-se por possuir folhas de cor diferente, dependendo das variedades (Figuras 1 e 2), passando pelos diversos tons de verde para matizado e a cor vermelha, que podem aparecer no Outono, no período imediatamente após a primeira geada. A margem é inteira ou finamente denteada. Na natureza apresenta um comportamento perene ou bienal, formando, na fase inicial de crescimento no primeiro ano, uma roseta de folhas e no segundo ano, o caule. Na prática comum, no entanto, o *radicchio* é cultivada como planta anual, com semeadura e /ou transplantes ocorrendo na maior parte do ano (Nicoletto, 2010; Pimpini et al., 2002).

No início de outono, o *radicchio* forma naturalmente uma cabeça contendo entre 50 a 80 folhas. Quando está no ponto de consumo, as folhas apresentam uma intensa cor púrpura em suas lamínas e com nervuras brancas (Nicoletto, 2010).

O *radicchio* tem sido pesquisado por muitos anos como fonte nutricionalmente relevante quanto a quantidade de fitoquímicos e seus potenciais benefícios a saúde tem sido relacionado, principalmente, aos compostos fenólicos (Nicoletto & Pinipi, 2010).



**Figura 1.** Variedades de *radicchi* e suas derivações (Nicoletto, 2010).

As boas características de comercialização do *radicchio* são a sua coloração, vermelha ou branca, crocância, o gosto amargo característico do vegetal e uma vida pós-colheita longa (Suhonen, 1990). Na Itália 15.156 hectares são destinados a produção do *radicchio*, produzindo um total de 2.471.042 toneladas. Desses valores, a região do Veneto é a maior produtora, com uma extensão de 8.333 hectares e uma produção de 1.186.690 toneladas em 2010 (ISTAT, 2011).



**Figura 2.** Variedades de *radicchi* comercializadas em feira livre na Itália, 2012.

### Modos de cultivo orgânico e convencional

As atuais mudanças na política global com diretrizes ecológicas, a crescente demanda por produtos orgânicos no mundo e as restrições impostas pelos países importadores quanto à qualidade e à segurança alimentar tem gerado a necessidade de estudos de técnicas alternativas para a produção de hortaliças que minimizem ou eliminem a utilização de adubos minerais e de agroquímicos (Fontanetti et al., 2004). Além disso, há a preocupação dos consumidores com a saúde, com a qualidade dos produtos e com a conservação do meio ambiente que levam a expansão dos produtos orgânicos (Vickas; Nantes, 2007).

Segundo a FiBL Survey & IFOAM (2008; 2010) a área de produção agrícola para os orgânicos no Brasil aumentou de 880.000 ha em 2006 para 1.765.793 ha em 2008, fazendo com que o Brasil ocupe o 4º país com maior área cultivável de produtos orgânicos da América Latina (Figura 3).



**Figura 3.** Agricultura orgânica na América Latina e Caribe: Área agrícola e parte da superfície agrícola total em 2008 (FiBL SURVEY; IFOAM, 2010).

A agricultura orgânica é um sistema de produção que busca a harmonia entre o meio ambiente e a produção agrícola para alcançar seus objetivos dispensa o uso de adubos e defensivos químicos que podem causar desequilíbrios ecológicos ou que sejam agressivos ao organismo humano, se utilizados indiscriminadamente. É um sistema que adota normas para produzir um alimento com suas características originais e que atenda as expectativas do consumidor (Borguini; Torres, 2005; Sampaio et al., 2008).



As práticas de manejo orgânico dão ênfase à melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo, através da adição de compostos orgânicos e esterco, no controle biológico de pragas e doenças, na rotação de culturas e no consórcio com a criação de animais (Reganold et al., 2000).

A adubação orgânica é uma prática comum na condução de pequenas áreas agrícolas, que utilizam resíduos gerados na própria unidade rural, ou nas proximidades para adubar o solo. Em solos tropicais e subtropicais altamente intemperizados, a matéria orgânica tem grande importância no fornecimento de nutrientes às culturas, retenção de cátions, complexação de elementos tóxicos e micronutrientes (Silva et al., 2008).

A agricultura convencional, em termos globais, proporcionou aumentos significativos de produtividade, dobrando a produção de alimentos entre 1950 e 1984. Porém, a partir de 1985 houve uma queda na produção associada aos problemas da aplicação tecnológica (Souza; Resende, 2006). Além disso, o processo de modernização da agricultura gerou incontáveis problemas de saúde, ambientais e socioeconômicos, tais como, envenenamento humano por agrotóxicos, desgaste de solo, erosão, poluição, êxodo rural, perda de autonomia do produtor rural, encarecimento de produtos alimentares, etc. (Souza; Resende, 2006; Vickas; Nantes, 2007).

### **Pós-colheita de produtos hortícolas e técnicas de conservação de qualidade pós-colheita**

A vida de prateleira de um alimento é definida como o tempo em que o produto, conservado em determinadas condições de temperatura, mantenham a qualidade inicial e permaneçam adequados para o consumo (Grizotto et al., 2006). Para se ter conhecimento sobre a previsão da vida de prateleira dos produtos hortícolas é necessário obter o máximo de informações sobre o produto a ser conservado, conhecendo-se o mecanismo e a cinética das principais reações de deterioração (Moura et al., 2007).

Após a colheita de diversas espécies, a primeira providência para manter a vida pós-colheita é o resfriamento (retirada do calor de campo), pois, temperaturas altas podem comprometer a vida de prateleira do produto. Este fato é claramente constatado no caso de hortaliças e frutas mais sensíveis ao calor. Além disso, quanto maior o tempo

de espera, mais será requerido do sistema de refrigeração para retirar o calor do produto (Pataro; Silveira Júnior, 2004).

Todo esforço com vista à conservação pós-colheita tem por objetivo reduzir a taxa com que esses processos ocorrem principalmente à respiração, que, embora seja processo para a manutenção da vida, deve ser mantida em nível baixo, a fim de que possa retardar a senescência (Chitarra & Chitarra, 2005). A senescência, um efeito fisiológico e bioquímico natural, que ocorre em todos os seres vivos, apresenta sintomas típicos de desordens irreversíveis visíveis a olho nu (Obando-Ulloa et al., 2009). A manutenção da qualidade dos produtos hortifrutícolas deve-se às técnicas de armazenamento pós-colheita que reduzem as taxas respiratórias, retarda o amadurecimento e previnem desordens fisiológicas dos frutos e hortaliças (Santos et al., 2006).

A vida de prateleira varia com o tipo de alimento, temperatura de estocagem e embalagem utilizada, entre outros fatores. Alguns danos devem ser observados durante o armazenamento, tais como contaminação microbiana, por insetos e roedores, oxidação, hidrólise e reversão em gorduras, oxidação de pigmentos, reações de escurecimento não enzimático, alterações devido à umidade, atividade enzimática, perda de valor nutritivo, interações com os recipientes e perda da qualidade estética (Mello et al., 2003).

Em hortaliças, a perda de água é a mais importante causa da deterioração porque isso resulta não somente na perda direta quantitativa, mas também no detrimento da aparência, perda de textura, frescor e da qualidade nutricional (Ansorena et al., 2009). A colheita interrompe o suprimento de água para o órgão vegetal o que pode veicular a aceleração da degradação da clorofila e outras reações de deterioração (Santos et al., 2001).

Também podem ocorrer lesões nos tecidos durante o armazenamento, como reações enzimáticas que produzem alterações sensoriais, como o surgimento de “off-flavor” (aromas estranhos), descoloração e perda de firmeza. O “off-flavor” é causado principalmente pela peroxidação dos ácidos graxos insaturados, catalisada por enzimas que irá ao final formar aldeídos e cetona (Mello et al., 2003).

Um dos métodos mais usados para manter a qualidade e a vida após a colheita de vegetais é a refrigeração. Em particular, conservar o bom estado de produtos perecíveis em ótima temperatura baixa é habitualmente usado pela indústria horticultural e tem sido o foco de numerosas investigações científicas em pós-colheita durante os anos (Henriod, 2006).

A refrigeração diminui o metabolismo e evita a rápida deterioração dos alimentos. Uma vez colhidos, os vegetais devem ser armazenados e transportados a baixas temperaturas para estender sua vida útil após a colheita e assim, chegar com boa qualidade aos mercados. Porém, isso muitas vezes, só a refrigeração não é suficiente para retardar as mudanças que afetam a qualidade (Seibert et al., 2008). Além da refrigeração é necessário manter a alta umidade, já que durante o período de armazenamento pós-colheita pode ocorrer redução da umidade, interferindo na taxa de transpiração do vegetal ou na evaporação subcuticular, especialmente em baixas temperaturas e sob ventilação (Henriod, 2006).

A redução da temperatura aumenta a conservação pós-colheita de vegetais, por diminuir a diferença de pressão de vapor entre a planta e o meio, reduzindo a perda de água (Santos et al., 2001). Em madioquinha-salsa conseguiu-se reduzir a perda de matéria fresca, manter o teor relativo de água e minimizar a degradação do amido armazenada a 5° e 10°C por 60 dias e com a utilização de filme de PVC (Ribeiro et al., 2007).

Em armazenamentos mais prolongados, pode ocorrer perda de firmeza, distúrbios fisiológicos e incidência de podridões, tornando-se as principais causas de perdas (Sestari et al., 2007). Também podem ocorrer injúrias pelo frio, que são desordens fisiológicas mais comuns e preocupantes em produtos hortícolas armazenados. Elas ocorrem quando os produtos são expostos a temperaturas inferiores à temperatura mínima de segurança, mas acima do ponto de congelamento (Kluge et al., 2006). O longo tempo de exposição de batatas-doces a baixa temperatura resultou no escurecimento do tecido interno, o qual tem sido atribuído ao aumento do conteúdo de compostos fenólicos (Padda; Picha, 2008).

Os sanitizantes e fungicidas também podem ser considerados como tratamentos de pós-colheita para hortaliças e frutas, já que eliminam os micro-organismos presentes na superfície dos alimentos, diminuindo assim, a velocidade de deterioração e conservando a qualidade dos mesmos. Porém alguns tipos de sanitizantes podem deixar resíduos (Oliveira et al., 2006).

Os sanitizantes mais utilizados são os liberadores de cloro ativo, como o hipoclorito de sódio ou cálcio, pois são de fácil utilização e baixo custo. Porém podem gerar substâncias cancerígenas, os trihalometanos (THMs), que são formados quando em contato direto da água com os ácidos húmicos e fúlvicos, produtos de decomposição da matéria orgânica (Pereira et al., 2006). Também são utilizados o ácido acético (vinagre) e o iodo como sanitizantes (Lüdke, 2009), além do ozônio.

O ozônio, gerado através de equipamentos específicos (Figura 4) apresenta vantagens pelo seu alto potencial antioxidante na higienização de alimentos, no tratamento de água para reuso, no tratamento de efluentes, na redução da demanda química e bioquímica de oxigênio, na redução de trihalometanos, na remoção de ferro e manganês solúveis e na remoção de gostos e odores indesejáveis (Chiattonne et al., 2008), diminuindo inclusive, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *E. coli*. coli O157:H7 (Selma et al., 2008).

O ozônio, a forma triatômica do oxigênio, apresenta-se como um gás incolor e de odor pungente. Em fase aquosa, o ozônio decompõe-se rapidamente a oxigênio e espécies radicais. O ozônio é um agente oxidante muito poderoso quando comparado a outros agentes oxidantes, permitindo que possa reagir com uma numerosa classe de compostos (Kunz et al., 1998). Quando o átomo de oxigênio livre ( $O^{\cdot}$ ) encontra a molécula de oxigênio ( $O_2$ ), que combina forma uma molécula de ozônio ( $O_3$ ) altamente instável. Essa instabilidade é que caracteriza seu alto poder antioxidante e devido a essa instabilidade o ozônio volta rapidamente à molécula de oxigênio ( $O_2$ ) liberando o átomo livre de oxigênio ( $O^{\cdot}$ ) combinando com outro átomo livre de oxigênio ( $O^{\cdot}$ ) formando o oxigênio ( $O_2$ ) ou combinando com outra metade química para causar oxidação (Güzelseydim et al., 2004).

O efeito germicida do ozônio difere dos outros sanitizantes pelo seu mecanismo de ação, ele age diretamente na parede celular, causando sua ruptura e morte em menor tempo de contato inviabilizando a recuperação dos micro-organismos após o ataque (Figura 7). Dependendo do tipo de microrganismo, o ozônio pode agir até 3.125 vezes mais rápido que o cloro na inativação celular (Chiattonne et al., 2008).



**Figura 4.** Aparelho de ozonizador acoplado em tanque de água e com circulação de água movimentada por bomba hidráulica. 1. Processo de inserção de água do abastecimento público no tanque e 2. Tanque de água lacrado e início do processo de ozonização da água e sanitização dos vegetais – 2010 (Foto: MANOEL, L.; 2010).

Em um estudo com uvas de mesa ‘Thompson Seedless’ a aplicação de 0.3 ppm de ozônio em frutos armazenados por 7 semanas a 5°C, inibiu completamente o desenvolvimento do fungo cinza (Palou et al., 2002).

Em café despulpado após fermentação e tratamento com ozônio não houve diferença significativa em relação ao controle para bactérias mesófilas, isso talvez se deva ao fato do ozônio tem efeito dispersante em microrganismos agrupados e aderidos a superfícies de alimentos, causando um aumento virtual do número de microrganismos. Em relação a fungos filamentosos e leveduras, os autores observaram redução significativa em relação ao controle (Nascimento et al., 2008).

Em cenouras para consumo, minimamente processadas, tratadas antes e depois do corte, com água clorada retenção de açúcar, redução da carga microbiana e ao mesmo tempo minimização da contaminação cruzada, o que não foi alcançado com o tratamento com ozônio (Klaiber et al., 2004).

No estudo da utilização de água ozonizada como um higienizador para prolongar a vida de prateleira de alface minimamente processado e o efeito sobre os componentes antioxidantes (polifenóis e vitamina C), notou-se que apesar de sua atividade oxidante forte, a água ozonizada não estimulou a atividade respiratória e as alterações dos compostos fenólicos foram independentes dos tratamentos de lavagem (Beltrán et al., 2005).

## **Antioxidantes naturais e qualidade pós-colheita de hortaliças**

Alguns autores correlacionam o modo de cultivo (convencional e orgânico) com o teor de antioxidantes e nutrientes. Segundo Lima et al. (2006), o teor de poliaminas depende do estado nutricional da planta, da época da colheita, das condições de cultivo, do modo de cultivo (orgânico e convencional) e do armazenamento. Outros estudos, como o de Heimler et al. (2009), há relatos de ausência de diferença entre grão de trigo cultivado de modo orgânico e convencional, em relação ao perfil metabólico (aminoácidos, marcadores de estresse, açúcares, nucleotídeos, ureia e vitamina B5).

Outra relação que pode ser feita é do tempo de prateleira de hortaliças produzidas de modo orgânico e convencional. Segundo Amante *et al.* (2003), alface americana cultivada sob o sistema orgânico superou em dois dias a vida útil quando comparada com as cultivadas em sistema convencional. Além disso, a avaliação sensorial mostrou sensível superioridade para a alface americana produzida no sistema orgânico.

O consumo de vegetais é fonte vital de minerais, vitaminas e fibra, além do fornecimento de quantidades substanciais de carboidratos, proteínas e energia. Esses alimentos exercem um papel importante na nutrição humana fornecendo certas substâncias de que outros alimentos são deficientes e neutralizam as substâncias ácidas produzidas na digestão de carne, queijo e outros alimentos ricos em energia (Salunkhe ; Kadam, 2003).

Entretanto, alguns alimentos além de nutrirem o nosso organismo produzem efeitos secundários benéficos à saúde por possuírem uma ou mais substâncias capazes de agir no sentido de modular os processos metabólicos, melhorando as condições de saúde. Esses alimentos são denominados alimentos funcionais ou produtos nutracêuticos e atuam como antioxidantes no corpo humano (Pimentel et al., 2005).

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Entretanto, o metabolismo do oxigênio nas células vivas também leva à produção de radicais livres. Oxidantes são compostos produzidos pelo metabolismo normal dos organismos e, se não controlados, podem provocar danos extensivos (Roesler et al., 2007). Os antioxidantes, quando presentes em

níveis altos em comparação a um composto oxidável, atrasam significativamente ou inibem a oxidação destes compostos. Sob condições normais, os antioxidantes e as ROS (espécies reativas de oxigênio) estão em equilíbrio, evitando assim os danos oxidativos às células. Sob certas condições, entretanto, esse equilíbrio pode ser perturbado, ocorrendo o estresse oxidativo (O'neil ; Thurnham, 1998).

As reações oxidativas acontecem na presença de espécies reativas de oxigênio, que apresentam elevada reatividade. Entre essas ROS encontram-se os radicais hidroxila ( $\text{OH}^-$ ), peroxila ( $\text{RO}_2^-$ ), alcooxila ( $\text{RO}^-$ ), hidroperoxila ( $\text{HO}_2^-$ ), íon superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}^-$ ), ozona ( $\text{O}_3^-$ ) e as formas triplete ( $^3\text{O}_2^-$ ) e singlete ( $^1\text{O}_2^-$ ) do oxigênio (Buchanam et al., 2000).

As espécies reativas de oxigênio (ROS) são formadas durante certas reações redox, e incompletas reduções de oxigênio ou oxidação da água pela transferência de cadeias de elétrons mitocondriais, formando, assim, o oxigênio singlete e subsequentemente, estimulando a produção de outra ROS, semelhante ao peróxido de hidrogênio, o íon superóxido e os radicais, hidroxila e perhidroxila. Essas moléculas reativas, especialmente a hidroxila, são altamente destrutivas de lipídeos, ácidos nucleicos e proteínas (Foyer; Noctor, 2005).

Em sistemas biológicos, a membrana celular constitui um dos focos da atuação das ROS. Além da membrana que envolve a célula, as membranas das organelas intracelulares, tais como mitocôndria, retículo endoplasmático, núcleo etc., apresentam uma estrutura bilipídica e uma variedade de proteínas e açúcares. O dano celular resulta basicamente do ataque da ROS sobre as macromoléculas, tais como açúcares  $(\text{CHOH})_n$ , DNA, proteínas e lipídios (Vasconcelos et al., 2007).

Nos ácidos graxos poliinsaturados das membranas, o ataque de radicais livres pode desencadear reações de oxidação, denominado de peroxidação lipídica (Mello et al., 1983). Essas reações são ocasionadas pelo peróxido de hidrogênio através da dismutação do radical ânion superóxido, seja espontânea ou pela ação da superóxido dismutase (SOD). Apesar de não ser um radical livre, pela ausência de elétrons desemparelhados na última camada, o peróxido de hidrogênio é um metabólico extremamente deletério, porque participa da reação que produz o radical hidroxil (Velloso et al., 2007; Chen et al., 2012). Além disso, é altamente tóxico para as células, já que possui vida longa e é capaz de atravessar camadas lipídicas, podendo reagir com

membranas biológicas ou com proteínas ligadas ao íon  $Fe^{2+}$  afetando a integridade estrutural e funcional da membrana celular e alterando sua fluidez e permeabilidade (Velloso et al., 2007; Vasconcelos et al., 2007).

A definição mais aceita para antioxidantes é que seriam substâncias as quais, mesmo presentes em baixas concentrações em relação ao substrato oxidante, poderiam atrasar ou inibir as taxas de oxidação (Rocha et al., 2007). Os compostos típicos que possuem atividade antioxidante incluem a classe de isoprenóides (tocoferóis, carotenóides), compostos fenólicos (flavonóides, isoflavonas), proteínas e aminoácidos, carboidratos e derivados (ácido ascórbico), ácidos graxos e lipídeos, minerais e microbiótico (Pimentel et al., 2005). Em concordância, Bora et al. (2005) relatam que entre os principais fitoantioxidantes destacam-se o ácido ascórbico, flavonóides como a rutina e quercetina, derivados do ácido cinâmico e outros compostos polifenólicos.

Existem várias combinações e interações entre os antioxidantes e isso parece ser importante pelo seu efeito. Para algumas combinações de antioxidante, um grande efeito total tem sido encontrado comparando o efeito esperado de uma simples adição de efeitos de antioxidantes individuais envolvendo o que se tem chamado sinergismo antioxidante (Altunkaya et al., 2009).

Os compostos fenólicos são um amplo grupo de metabólitos secundários generalizado no reino vegetal. São categorizados em classes dependendo de sua estrutura e subcategorizados dentro de cada classe de acordo com o número e a posição do grupo hidroxílico e a presença de outros substituintes (Podsędek, 2007). Vários estudos têm mostrado que os polifenóis em plantas têm um efeito sinérgico com outros antioxidantes presentes em material vegetal (Altunkaya et al., 2009).

A ação antioxidante dos fenóis ocorre pela interferência com processo oxidativos por meio da quebra de cadeia de atividades de reação (oxidação primária) ou por meio de ligação de radicais livres (oxidação secundária) (Heredia; Cisneros-Zevallos, 2009). O conteúdo de fenólicos em frutos é afetado pela diminuição do ponto de maturação na colheita, diferenças genéticas (cultivar), condições ambientais da pré-colheita, condições processo de armazenamento pós-colheita (Zadernowski et al., 2009).

O grupo mais amplo e diversificado dos polifenóis são os flavonóides, que são construídos sobre um esqueleto de flavona  $C_6-C_3-C_6$ . Os flavonóides possuem diferentes



atividades biológicas, mas o mais importante é a atividade antioxidante, efeito protetor capilar e efeito inibitório em vários estágios de tumor (Podsędek, 2007).

A maioria dos flavonóides tem a capacidade de reagir com os radicais livres sequestrando-os ou neutralizando-os e também na quelação de metais de transição. Sua ação deve-se às suas propriedades redutoras e estrutura química agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (Pimentel et al., 2005). Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente nessas substâncias (Sousa et al., 2007).

Flavonóides protegem as plantas contra a radiação UV, micro-organismos e herbívora. Flavonóides, como as antocianinas, chalconas e flavonas são pigmentos da planta, os quais determinam a cor dos vegetais. Os ácidos fenólicos, como benzóico, hidroxibenzóico, vanílico e caféico têm propriedades antimicrobianas e antifúngicas. Os derivados do ácido hidroxicinâmico, como os ácidos caféico, clorogênico, cinâmico, ferúlico e *p*-cumáricos possuem fortes atividades antioxidantes devido a inibição da oxidação lipídica e sequestro de espécies reativas de oxigênio (Hounsome et al., 2009; Podsędek, 2007).

Os flavonóides agem em qualquer estágio do processo oxidativo, bloqueando a iniciação e sequestrando os primeiros radicais livres. O radical flavonóide intermediário, formado após a reação com radicais, pode continuar reagindo com os outros radicais formados durante a fase de propagação e assim acelerar o processo de terminação (Wildman et al., 2001).

A vitamina C é um dos antioxidantes mais importantes encontrados em vegetais. Existem diversas substâncias que apresentam atividade da vitamina C, das quais a mais importante é o ácido L-ascórbico, também denominado ácido ascórbico. É uma vitamina hidrossolúvel, que juntamente com a vitamina E e o  $\beta$ -caroteno (pró-vitamina A) formam o trio dos grandes antioxidantes que auxiliam na neutralização dos radicais livres (Lima et al., 2006). O ascorbato desempenha um papel proeminente na rede de defesa antioxidante de plantas devido à sua excelente capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio (ROS) (Ansensi-Fabado;Munné-Bosh, 2010).

A vitamina C aumenta direta ou indiretamente os níveis endógenos dos antioxidantes. É também cofatora de diversas enzimas, regenera o radical tocoferila

formado na reação do  $\alpha$ -tocoferol com radicais e atua como um antioxidante *in vivo*, fazendo parte da linha de defesa hidrossolúvel (Guaratini et al., 2007).

Em sistemas biológicos, em pH fisiológico, 99,95% da vitamina C ( $\text{AsCH}_2$ ) encontra-se na forma de ascorbato (Asc), que é a forma que atua como antioxidante, ao doar um  $\text{H}^*$  ou  $[\text{H}^+ + \text{e}^-]$  para um radical. O ascorbato ( $\text{AscH}^*$ ) atua como antioxidante sobre a ROS (espécies reativas de oxigênio), em ambiente biológico aquoso, resultando na formação do ânion radical semidesidroascorbato ( $\text{Asc}^{* -}$ ), ou ascorbila, pouco reativo. Atua eficientemente sobre o ânion-radical superóxido, o peróxido de hidrogênio, o hipoclorito e os radicais, hidroxila e peroxila. O ascorbato pode atuar diretamente nas membranas celulares, por impedir a iniciação da peroxidação lipídica ou indiretamente por regenerar a vitamina E, que atua como antioxidante da face lipofílica da membrana. Além disso, pode regenerar o ânion radical urato a partir de urato, fechando o ciclo de atuação antioxidante do mesmo (Vasconcelos et al, 2007). Mazza et al. (2000) relatam que em presença de ácido ascórbico ocorre a inibição da degradação oxidativa da quercetina *in vitro*, podendo dessa forma, proteger os flavonóides, atuando de forma sinérgica.

Em plantas o ascorbato atua em coordenação com a glutatona e antioxidantes enzimáticos nos cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos e citosol e no ciclo de glutatona-ascorbato de controla a quantidade de peróxido de hidrogênio formado no interior da célula (Ansensi-Fabado; Munné-Bosh, 2010).

As clorofilas são os pigmentos mais abundantes nas plantas e comuns em todas as células fotossintéticas. Os pigmentos envolvidos na fotossíntese são as clorofilas *a* e *b*, os carotenóides e as ficobilinas. A clorofila *a* é o pigmento utilizado na fase fotoquímica, enquanto os demais constituem os chamados pigmentos acessórios (Cruz et al., 2007).

Todos os organismos fotossintéticos que produzem oxigênio a partir da água durante a fotossíntese, contém clorofila *a*. Esta, junto com uma quantidade menor (entre um terço e a metade) de clorofila *b*, constituem as clorofilas das plantas verdes e se localizam nos tilacóides dos cloroplastos. As algas pardas, diatomáceas e dinoflagelados possuem junto com a clorofila *a* e clorofila *c*, e as algas vermelhas contém a clorofila *d* (Coll et al., 2001).

Atualmente, os pigmentos clorofílicos são de grande importância comercial, podendo ser utilizados tanto como pigmentos, quanto como antioxidantes. As diferenças aparentes na cor do vegetal são devidas à presença e distribuição variável de outros pigmentos associados, como os carotenóides (Cruz et al., 2007).

Os pigmentos verdes são muito comuns em legumes e em várias frutas. Devido a sua cor e as propriedades físico-químicas, são também usadas como aditivos para produtos alimentícios. Estes pigmentos são quimicamente instáveis e podem ser alterados ou destruídos facilmente, modificando a percepção e a qualidade dos produtos. Em geral, as clorofilas são relativamente instáveis e sensíveis à luz, aquecimento, oxigênio e a degradação química (Schoefs, 2002).

A retenção da cor verde é um atributo de qualidade, principalmente dos vegetais folhosos e frutos, esta manutenção também está relacionada com os níveis de ácido ascórbico no tecido que é maior nos vegetais verdes (Ansorena et al., 2009). A molécula de clorofila é relativamente estável em pH alcalino, enquanto que em meios ácidos perde rapidamente o magnésio, transformando-se em feofitina. A conversão de clorofila em feofitina é uma reação de descoloração originada da acidificação do citoplasma celular, ou pela degradação através da enzima clorofilase, que pode ser ativada pelo aumento de etileno (Amante et al., 2003).

As poliaminas são moléculas que possuem dois ou mais grupos amina e são também consideradas antioxidantes. Estas moléculas estão envolvidas na regulação base de muitos processos celulares, incluindo replicação de DNA, a transcrição, tradução, proliferação de células de modulação, de atividades enzimáticas, celular balanço cátion-aniónico e estabilidade da membrana (He *et al.*, 2008). São classificadas de acordo com os grupos NH ou NH<sub>2</sub> presentes na molécula (Bagni; Tassoni, 2001), sendo putrescina (1,4-diaminobutano), espermidina (N-(3-aminopropil)-1,4-diaminobutano) e espermina (N, N'-bis-(3-aminopropil)-1,4-diaminobutano) as mais comuns (Kalac ; Krausová, 2005a; Kalac ;Krausová, 2005b).

As poliaminas vegetais ocorrem tanto quanto como aminas livres ou conjugadas ao ácido hidroxicinâmico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico e ácido caféico. Na forma insolúvel, são covalentemente ligadas a macromoléculas diversas, tais como ácidos nucleicos e proteínas (Wei et al., 2009). São essenciais para o crescimento normal das

células, e os seus conteúdos em células são mantidas por biossíntese, degradação e transporte (Igarashi ; Kashiwagi, 2010).

As poliaminas são importantes na síntese de metabólicos secundários, como os alcalóides. Por inibirem a peroxidação lipídica, retardam a senescência por serem sequestradoras de radicais livres. As poliaminas endógenas também estão envolvidas no atraso do amolecimento e podem aumentar a firmeza das frutas durante o armazenamento (Chitarra ; Chitarra, 2005). Os mecanismos associados a esses efeitos, provavelmente, estão relacionados com a ligação direta das poliaminas às membranas, prevenindo a peroxidação de lipídeos ao ataque proteolítico e a inibição da síntese de etileno através da inibição de ACC sintase (aminocilopropano-carboxílico sintase) (Lima et al., 2003; Martínez-Romero et al., 2007). Estudos mostram que as poliaminas de plantas estão envolvidas na aquisição de tolerância a estresses como altas e baixas temperaturas, salinidade, hipóxia e poluentes atmosféricos (He et al., 2008). Estudos com poliaminas exógenas mostram que ocorre aumentos dos níveis endógenos durante o armazenamento, e por sua vez, pode estender a vida útil dos vegetais (Martínez-Romero et al., 2007).

Algumas enzimas também estão ligadas ao estresse oxidativo (Kumar; Malhotra, 2008). As polifenoloxidasas (PPO) e lipoxigenase, peroxidase (PDO) e fenolase, podem levar à iniciação de reações de deterioração, isto é, a cor indesejável sabor, ou alterações nutricionais (Gonçalves et al., 2010; Rao et al., 2010), escurecimento e senescência, que são relacionado a reações enzimáticas de polifenóis e estresse oxidativo de espécies reativas de oxigênio (ROS) em tecidos do da parede celular ocasionando uma diminuição do tempo de vida útil após a colheita (Bassal; El-Hmahmy, 2011). Um sistema antioxidante eficiente pode adiar o processo de senescência, embora a atividade antioxidante em vegetais diminua com o envelhecimento (Rao et al., 2010).

A peroxidase atua na remoção de átomos de hidrogênio dos alcoóis, combinando-os com o peróxido de hidrogênio para formar moléculas de água (Menolli et al., 2008). As peroxidases estão envolvidas na polimerização da lignina. Pode estar localizada na parede celular da célula o que demonstra que esta isoenzima está ligada a formação da parede celular e lignificação e também é considerada como um marcador de organogênese (Barceló; Aznar-Asensio, 2002).

Provas recentes indicam que a peroxidase poderia aumentar a reações de escurecimento, mediadas pela polifenoloxidase. A peroxidase também está envolvida na

degradação da clorofila, porém o mecanismo de ação da peroxidase não parece ser uma oxidação direta pelo peróxido de hidrogênio, em vez disso, é suposto ser devido à oxidação direta da molécula de clorofila por radicais fenoxi que são gerados por reação da peroxidase com o grupo *p*-hidroxilo fenólico de certos compostos (Toivonen; Brummell, 2008).

O nível de compostos fenólicos e da polifenoloxidase são conhecidos por serem principais intervenientes no processo de escurecimento da fruta e legumes, crus ou minimamente processadas (Mishra et al., 2012). As polifenoloxidases promovem a oxidação enzimática de compostos fenólicos produzindo, primeiramente, quinona que depois se condensa em pigmentos escuros e insolúveis (Menolli et al., 2008). A reação de escurecimento, que resulta de danos mecânicos durante o armazenamento pós-colheita ou do processamento de frutas e vegetais, é um fenômeno generalizado (Segovia-Bravo et al., 2009).

A síntese do composto fenólico está associado com o retículo endoplasmático. As proteínas envolvidas com a sua síntese ou são incorporados na membrana do retículo endoplasmático, ou são fracamente associado com ele. Uma vez formada, estes compostos são glicosilados e, em seguida, são extrudidos dentro de vesículas de transporte formados a partir da membrana do retículo endoplasmático. Estas vesículas são o veículo pelo qual os compostos fenólicos são transportados para o vacúolo ou para dentro do compartimento de parede apoplasto / célula (Toivonen ; Brummell, 2008).



## **CAPÍTULO I<sup>1</sup>**

**Influência da sanitização na qualidade de brócolis orgânicos e convencionais**

**Influence of sanitation on the quality of organic and conventional broccoli**

<sup>1</sup>O artigo está redigido de acordo com as normas para publicação na Revista Ciência Rural.

## RESUMO

O experimento foi conduzido com a finalidade de se avaliar o efeito da água clorada e ozonizada na qualidade físico-química e microbiológica em brócolis produzidos nos modos de cultivo orgânico e convencional. Brócolis orgânicos e convencionais foram submetidos à tratamentos de sanitização usando cloro e ozônio (em dois tempos de imersão) e mantidos em câmara fria por 7 dias. Análises de pH, AT, SS, ratio e perda de massa fresca foram realizadas. Foram ainda determinados os teores de Cu, Mn e Zn, a presença de pesticidas e de micro-organismos (fungos e bactérias). Os resultados mostram que não houve influência do cultivo ou da sanitização na perda de massa fresca. O modo de cultivo aliado aos tratamentos de lavagem influenciou significativamente AT e os SS. Não houve influencia do modo de cultivo nos teores de Cu, Zn e Mn. O uso do ozônio não alterou as qualidades físico-químicas dos brócolis, independente do modo de cultivo, o que pode ser promissor como alternativa para uso como sanitizante. Não foi detectada a presença de pesticidas nos brócolis orgânicos ou convencionais. Todos os sanitizantes utilizados na higienização de brócolis orgânicos e convencionais forma eficientes na diminuição da carga microbiana e na manutenção da qualidade fitossanitária durante o período de armazenamento.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *Italica*, organoclorados, pH, minerais, ozônio.

## ABSTRACT

The experiment was conducted to evaluate the effect of chlorinated and ozonated water in the physico-chemical in broccoli produced in the modes of organic and conventional cultivation. Organic and conventional broccoli were submitted to sanitization treatments using chlorine and ozone (at two times immersion) and kept in cold storage for 7 days. Analyses of pH, TA, SS, ratio and weight loss were performed and were determined for

Cu, Mn and Zn. In addition these determinations, were verified the presence of pesticides. The results show no influence of cultivation or sanitation in weight loss. Cultivation methods and sanitizing treatments affect the pH, the acidity, and soluble solids ratio during the evaluation period. There was no difference between the mineral levels of organic and conventional broccoli. It was not detected the presence of organochlorine compounds in organic and conventional broccoli.

Key words: *Brassica oleracea* var. *Italica*, organochlorine compounds, pH, minerals, ozone.

## INTRODUÇÃO

O consumo de vegetais cultivados de modo orgânico tem crescido nos últimos anos, devido à diversas razões, como: ausência de pesticidas, maior teor de alguns nutrientes (LIMA & VIANELLO, 2011) e aumento em número de variedades com compostos de potencial antimutagênico (REN *et al.*, 2001).

Diversos estudos têm sido conduzidos com brócolis, cultivados de modo orgânico e convencional, mostrando a superioridade dessa hortaliça em possuir maiores teores de fitoquímicos quando cultivados de modo orgânico (NAGUIB *et al.*, 2012; ROSSETTO *et al.*, 2009). Como uma hortaliça, quando submetidas às condições não controladas de armazenamento, as mudanças fisiológicas podem levar rapidamente à senescência tornando os tecido mais susceptíveis ao ataque de micro-organismos. Deste modo, o controle das alterações fisiológicas e a manutenção da qualidade pós-colheita podem aumentar a vida útil desses vegetais, incluindo o brócolis (ARAÚJO *et al.*, 2010). A qualidade dos produtos hortícolas está relacionada à aparência, teor de sólidos solúveis, acidez, pH, textura e sabor (FERREIRA *et al.*, 2010).

Várias técnicas podem promover o aumento da vida útil de frutas e hortaliças, entre essas, a utilização de sanitizantes tem se mostrado eficaz, já que atua no controle



de micro-organismos que induzem a deterioração. O sanitizante mais utilizado é o hipoclorito de sódio, pois é de fácil utilização e baixo custo. Porém, podem gerar substâncias cancerígenas, os trihalometanos (THMs), que são formados quando em contato direto da água com os ácidos húmicos e fúlvicos, produtos de decomposição da matéria orgânica (PEREIRA *et al.*, 2006), e portanto, não devem ser usados em alimentos de cultivo orgânicos. Outras opções são o ácido acético e o iodo, assim como o peróxido de hidrogênio (NASCIMENTO *et al.*, 2010) e o ozônio (KLAIBER *et al.*, 2004). O efeito germicida do ozônio difere dos outros sanitizantes pelo seu mecanismo de ação; ele age diretamente na parede celular, causando sua ruptura e morte em menor tempo de contato, inviabilizando a recuperação dos micro-organismos após o ataque. Dependendo do tipo de micro-organismo, o ozônio pode agir até 3.125 vezes mais rápido que o cloro na inativação celular (CHIATTONE *et al.*, 2008). O teor de ozônio usado como sanitizante, mostra variação na sua concentração, de 0,02 ppm (CHIATTONE *et al.*, 2008) a 4,5 ppm (ÖLMEZ & AKBAS, 2009).

Devido ao consumo de alimentos orgânicos terem aumentado e o uso do cloro ser inviável, torna-se necessário a busca de sanitizantes que possam ser utilizados tanto na produção convencional quanto na produção orgânica de hortaliças e frutas. Uma das diretrizes da produção orgânica é a busca em oferecer alimentos em que os atributos de qualidade sejam a ausência de resíduos químicos ou aditivos sintéticos oferecendo ao consumidor alimentos de boa qualidade, livre de contaminantes de natureza química, física ou biológica (BORGUINI & TORRES, 2006) e o ozônio pode ser uma opção para esses fins.

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito da água clorada e ozonizada na qualidade físico-química e microbiológica em brócolis produzidos nos modos de cultivo orgânico e convencional.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os brócolis (*Brassica oleracea* L. cv Itálica) produzidos pelo cultivo orgânico e convencional foram adquiridos de produtores orgânicos locais da cidade de Botucatu, SP. As coordenadas geográficas aproximadas são latitude 22° 44' 50'' sul e longitude 48° 34' 00'' oeste de Greenwich, com altitude em torno de 765 m. O clima da região é do tipo mesotérmico, subtropical úmido com estiagem no período do inverno. O total da precipitação média anual é de 1.534 mm, apresentando o total médio para o mês mais chuvoso (janeiro) de 242 mm e de 38 mm para os meses mais secos (julho e agosto). A temperatura média anual é de 21°C.

Para assegurar a comparação, foram adquiridas plantas de a mesma cultivar e com a mesma idade fisiológica. Os vegetais foram colhidos nas primeiras horas da manhã, selecionados e transportados, imediatamente, ao Laboratório de Bioquímica Vegetal.

Os brócolis, após serem selecionados, lavados para retirada de impurezas maiores, foram submetidos aos tratamentos de sanitização com cloro e dois tempos de ozonização, além do controle (em água). No tratamento com cloro, os brócolis foram imersos em água contendo hipoclorito de sódio a 0,1% por 5 minutos e nos tratamentos com ozônio, foram imersos em *container* de 186 L, acoplado a um gerador de ozônio (Degradatox/OZ Engenharia, Indústria de Equipamentos Geradores de Ozônio- LTDA, Porto Alegre, RS) por 5 e 10 minutos (0,5 ppm por minuto). O controle consistiu de imersão dos brócolis em água de abastecimento público por 5 minutos.

Os tratamentos de imersão utilizaram o mesmo *container* que gerava ozônio (Figura 1), que era constituído de um tanque de plástico, contendo uma bomba centrífuga que recircula o líquido no interior do tanque. Para a geração do ozônio, o fluxo de água gera vácuo por onde é sugado o ozônio gerado no Gerador de ozônio,

[constituído de um tubo dielétrico onde o oxigênio é submetido a uma descarga elétrica que transforma O<sub>2</sub> em O<sub>3</sub> (ozônio)], que então é injetado na água em *container* de 186 L, para tratamento dos produtos.

Após os tratamentos de imersão, os brócolis foram selecionados novamente, reunidos em maços e armazenados câmara fria por sete dias, a temperatura de  $6 \pm 1^\circ\text{C}$ , com umidade relativa do ar a  $93 \pm 1\%$ , controlados por termo-higrômetro digital TFA Dostmann/EWertheim.

As coletas foram realizadas no momento da chegada das plantas do campo e após lavagem com água para retirada de impurezas maiores, logo após a sanitização e aos 4 e 7 dias para as análises de pH, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e ratio (AT/SS), totalizando 4 épocas de análise. Para a perda de massa as análises foram diárias.

Para obtenção do material seco, os brócolis foram acondicionados em sacos de papel Kraft furados e levados para estufa com circulação forçada de ar, a  $40 \pm 1^\circ\text{C}$ , até peso constante. Após secagem completa, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey. No material seco foram caracterizados os minerais, Cu, Mn e Zn e os pesticidas.

Para a determinação da perda de massa foi utilizada uma balança SHIMADZU modelo BL3200H, carga máxima 3.200 g e divisão por 0,01 g. A porcentagem de perda de massa foi calculada a partir da equação (E1), onde PM= perda de massa (%); Pi= peso inicial da hortaliça (g) e Pj= peso do fruto no período subsequente a Pi (g).

$$\text{Equação E1: } \quad \text{PM(\%)} = [(P_i - P_j)/P_i] \quad \times 100$$

Para análise do pH, foram pesadas 10g da amostra e homogeneizadas com 10 mL de água destilada. O pH dos vegetais homogeneizados foi determinado utilizando-se um medidor de pH (MS Tecnoyon, modelo PA200).

Os sólidos solúveis (SS) foram determinados por leitura direta em refratômetro digital (Schmidit/Haensch, modelo DHR-60) e os resultados expressos em °Brix.

A acidez titulável (AT) foi determinada de acordo com metodologia encontrada em Adolf Lutz (2005). Após homogeneização de 10 g de brócolis em 100 mL de água destilada, a suspensão foi titulada com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1N para a neutralização dos ácidos orgânicos, tendo como indicador o ponto de viragem da fenolftaleína, que ocorre quando a solução atinge o pH 8,10, com resultados expressos em porcentagem de ácido málico.

A relação SS/AT (ratio) foi determinada através da relação entre o teor de sólidos solúveis e acidez titulável (TRESSLER & JOSLYN, 1961).

A quantificação de cobre, manganês e zinco foi feita por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite após a mineralização das amostras. Nessas determinações foi utilizado espectrômetro de absorção atômica (SHIMADZU modelo AA-6800), equipado com corretor de absorção de fundo com lâmpada de deutério e sistema *self-reverse* (SR), tubo de grafite pirolítico com plataforma integrada e amostrador automático ASC-6100. Foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco de cobre, manganês e zinco (SHIMADZU), operada com 10mA de corrente. O comprimento de onda utilizado foi de 324,7 nm para o cobre; 279,5 nm para o manganês e 213,8 nm para o zinco, com resolução espectral de 0,5 nm. Argônio foi utilizado como gás inerte, mantendo-se um fluxo constante de 1 L min<sup>-1</sup> durante todo o programa de aquecimento, exceto na etapa de atomização, na qual o fluxo de gás foi interrompido. Os sinais de

absorbância foram medidos em área de pico (NEVES et al., 2009; NEVES et al., 2008). As análises foram realizadas no Laboratório de Absorção Atômica sob responsabilidade do Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha do Departamento de Química e Bioquímica, IBB, UNESP – SP.

Os resíduos dos pesticidas foram determinados apenas qualitativamente. As amostras dos vegetais (5g) foram finamente moídas e submetidas ao processo de extração com n-hexano (20mL), posteriormente, foram identificadas qualitativamente por cromatografia de camada delgada (placa 20 x 20; 0,25 micras; 60G, Merck, Germany) através dos grupos químicos: carbamatos, organoclorados, organofosforados e herbicida segundo metodologia descrita por Moraes *et al.*( 1991) e Filho (1983). Os resultados foram comparados com os padrões Diazinon, Malation, Clhorpiryfos, Carbofuran e Aldica. As análises foram realizadas no Centro de Assistência Toxicológica (CEATOX)/IB/UNESP).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado constituído de 8 tratamentos: brócolis orgânicos imersos em água por 5', imersos em água clorada a 0,1% por 5' e imersão água ozonizada por 5 e 10' e brócolis convencionais imersos em água por 5', imersos em água clorada a 0,1% por 5' e imersos água ozonizada por 5 e 10'. Cada tratamento constou de três repetições, constituídas de dois maços comerciais de brócolis. Foram realizadas 4 coletas, sendo que a primeira ocorreu no dia da chegada das plantas do campo, sem tratamentos, recebendo a denominação 0. Logo após a exposição aos tratamentos, foi realizada a primeira coleta de amostras, denominada 1 e as plantas foram tratadas e levadas para câmara fria. As retiradas foram no quarto e sétimo dia de armazenamento para as determinações de pH, AR, SS e ratio. Para análises microbiológicas, de minerais e de pesticidas, foram usadas amostras apenas do dia 1 (após os tratamentos). Para a análise

de perda de massa, as análises foram realizadas diariamente, durante sete dias. As extrações foram feitas em triplicatas para cada uma das repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott ( $p < 0.05$ ), pelo programa Assistat versão 7.6 Beta (SILVA, 2009).

Para as análises microbiológicas os extratos vegetais pulverizados em nitrogênio líquido foram ressuspensos em solução tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,0, previamente esterilizada a 121°C a 1 atm por 20 minutos e foram inoculados em meios de cultivos para a verificação da presença ou ausência de fungos e bactérias.

Para a detecção de fungos, alíquotas de 100 uL da suspensão do extrato vegetal foram inoculadas na superfície do meio Ágar Batata Dextrose (PDA) contido em placas de petri, previamente esterilizados a 121°C a 1 atm por 20 minutos, e espalhadas com alça de drigalski. As placas contendo o meio de cultivo e o inóculo foram incubadas a 30°C por 120 h e após esse período foi verificada presença ou ausência de fungos. Os testes foram realizados em duplicatas.

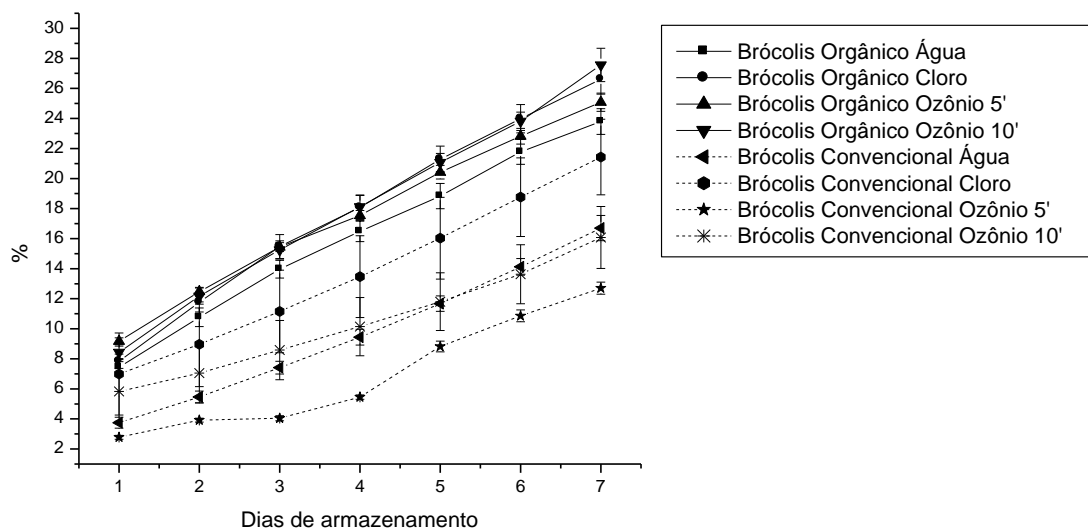
Para a detecção e contagem de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*, alíquotas de 100 uL da suspensão do extrato vegetal foram inoculadas pela técnica de esgotamento do inóculo em placas de petri contendo, respectivamente, meio Agar *Staphylococcus* n°110 (Himedia), meio Agar *Salmonella Shigela* M108 (Himedia) e meio Agar Hicoliforme Rapido (Himedia). As placas contendo o meio de cultivo e o inóculo foram incubadas a 37°C por 24 h. Os meios utilizados são cromogênicos e permitem a identificação das bactérias de acordo com a coloração que assumem após crescimento. Os testes foram realizados em duplicatas.

Foram realizadas análises microbiológicas para detecção de Coliformes totais e Coliformes termotolerantes, para tal utilizou-se a técnica do número mais provável (NMP) também conhecido como método de tubos múltiplos. O teste presuntivo, foi

efetuado por meio da distribuição, em triplicata, de alíquotas de 0,1 mL em tubos contendo caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST) contendo tubos de Durhan invertidos, os quais foram posteriormente incubados de 35°C por 48 horas. Os tubos que apresentaram formação de gás e turvação foram considerados positivos para a presença de coliformes totais. Foram então, retiradas alíquotas de 0,1 mL dessas culturas positivas e semeadas em tubos contendo 5 mL de Caldo *Escheria coli* (meio EC) contendo tubos de Durhan invertidos e deixados em banho-maria de 44,5°C durante 24 horas. A positividade do teste foi observada pela produção de gás e turvação no interior do meio. Todos os resultados dessas leituras foram expressos em número mais provável de bactérias por grama de material analisado (NMP g<sup>-1</sup>).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Apesar de não ocorrer diferença significativa, nota-se uma tendência dos brócolis orgânicos, em todos os tratamentos de sanitização, assim como durante o armazenamento em câmara fria, mostrarem os maiores valores para a perda de massa fresca (Figura 2). A perda de massa fresca aumentou gradativamente durante o período de avaliação. A porcentagem inicial foi de 6,52% e no último dia de avaliação foi de 21,25%. Geralmente, a perda de massa é atribuída a perda de água, sendo a transpiração uma das principais causas de deterioração pós-colheita dos produtos hortícolas (BRACKMANN et al., 2005), resultando em perdas quantitativas e qualitativas como a aparência, as qualidades texturais e nutricionais dos produtos (REIS et al., 2006).



**Figura 2.** Perda de massa fresca (%) em brócolis produzidos de modo convencional e orgânico, submetidos a tratamentos de sanitização e mantidos em câmara fria por sete dias.

Os tratamentos tanto com cloro, como ozônio, também induziram perda de água em brócolis orgânicos, comparados com o convencional e também, em comparação com a lavagem apenas em água. Diversos trabalhos mostram que a perda de massa é constante e muitas vezes diferenciada em vegetais de origem orgânica (MOREIRA et al., 2003). De acordo com SCHUPHAN (1974), plantas orgânicas tem colênquima mais espesso, que reduz a perda de água. Neste trabalho nota-se que os orgânicos apresentaram maior porcentagem de perda de massa fresca, mesmo sem mostrar diferença significativa, diferente dos relatos encontrados na literatura (SANTOS et al., 2001) e independente dos tratamentos usados.

Nota-se na caracterização (dia 0), que os brócolis orgânicos apresentaram valor de pH menor que os cultivados de modo convencional (Tabela 1). Após os tratamentos de sanitização, apenas os brócolis orgânicos imersos em água apresentaram diminuição



do pH durante o armazenamento. Nos brócolis convencionais, nas lavagens em água e água clorada não houve alterações significativas nos valores de pH no decorrer do período de avaliação. Quando submetidos a tratamentos com ozonização por 5 minutos, os brócolis apresentaram aumento de pH apenas no quarto dia de análise, enquanto que na imersão por 10 minutos, os brócolis de cultivo convencional apresentaram diminuição no último dia de armazenamento.

Na chegada das plantas do campo, nota-se menores valores de pH para os brócolis orgânicos. Esse resultado se inverte durante o armazenamento, não ocorrendo diferença significativa nos últimos dias de análise.

**Tabela 1.** pH e acidez titulável ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  ácido málico) em brócolis produzidos de modo convencional e orgânico, submetidos a tratamentos de sanitização e mantidos em câmara fria por sete dias.

Tratamentos	Dias de Análise							
	pH				Acidez Titulável			
	0	1	4	7	0	1	4	7
Org. - Água	5,35bC	6,70aA	6,35aB	6,39aB	0,59aA	0,17dC	0,28aB	0,29aB
Org. - Cloro	5,35bB	6,53aA	6,47aA	6,39aA	0,59aA	0,27cC	0,23aC	0,34aB
Org. - Ozônio 5'	5,35bB	5,33cB	6,43aA	6,47aA	0,59aA	0,23cC	0,20bC	0,29aB
Org. - Ozônio 10'	5,35bB	6,48aA	6,51aA	6,45aA	0,59aA	0,25cC	0,17bD	0,34aB
Conv. - Água	6,42aA	6,29bA	6,37aA	6,37aA	0,59aA	0,44bB	0,17bC	0,17bC
Conv. - Cloro	6,42aA	6,39bA	6,53aA	6,36aA	0,59aA	0,40bB	0,17bC	0,16bC
Conv. - Ozônio 5'	6,42aB	6,21bB	6,62aA	6,36aB	0,59aA	0,57aA	0,15bB	0,15bC
Conv. - Ozônio 10'	6,42aA	6,33bA	6,35aA	6,45aB	0,59aA	0,52aB	0,15bC	0,16bC
C.V.	1,99				11,66			

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, ao nível 5%,

pelo teste de Scott-Knott.

Os valores de pH encontrados neste estudo foram consistentes com os descritos na literatura, como relatado por PADULA et al. (2006) com brócolis *Italica*, que verificaram variação do pH entre 6,16 e 6,72 e com os resultados obtidos por ARTÉS et al. (2001), cuja variação ficou entre 6,50 e 6,72.

Em brócolis orgânicos lavados em água houve diminuição na acidez logo após a lavagem (dia 1), independente do sanitizante usado, aumentando aos sete dias de armazenamento. Em brócolis convencionais, todos os tratamentos de sanitização induziram diminuição de acidez titulável durante o armazenamento (Tabela 1). Maiores valores de AT para brócolis cultivados de modo orgânico, ocorreram no sétimo dia de análise, independente do tratamento de sanitização usado.

Provavelmente, os aumentos de pH encontrados em todos os tratamentos no tempo, correspondem às diminuições nos valores de AT observados (Tabela 1), tanto em orgânicos como em convencionais. Resultados similares foram descritos por MOREIRA et al. (2003) em estudos com acelga (*Beta vulgaris* L. cv cycla) cultivados de modo orgânico e convencional.

A acidez indica a presença de ácidos orgânicos nos vegetais. Com poucas exceções, as hortaliças possuem baixa acidez causando uma suscetibilidade ao ataque de bactérias e fungos, diminuindo assim a vida pós-colheita desses vegetais (AROUCHA et al., 2010), o que é um fator importante para a escolha de um bom sanitizante, que mantenha baixa a contaminação por micro-organismos, assim como, mantenha outros parâmetros que contribuem para a sua qualidade.

O teor de sólidos solúveis em brócolis orgânicos sanitizados com água de abastecimento público, água clorada e ozônio por 10 minutos diminuiu depois da imersão da lavagem, aumentando a partir do quarto dia (Tabela 2).

Nos brócolis convencionais, em todos os tratamentos, houve diminuição nos teores de sólidos solúveis após as sanitizações. Quando imersos em água os teores de sólidos solúveis apresentaram um considerável aumento no último dia de análise, atingido valor de 9,75°Brix.

**Tabela 2.** Sólidos solúveis (°Brix) e relação SS/AT (ratio) em brócolis produzidos de modo convencional e orgânico, submetidos a tratamentos de sanitização e mantidos em câmara fria por sete dias.

Tratamentos	Dias de Análise							
	Sólidos Solúveis				Ratio			
	0	1	4	7	0	1	4	7
Org. - Água	8,95aB	5,87cD	8,30bC	9,63bA	12,97aB	34,61aA	30,15dA	33,48dA
Org. - Cloro	8,95aB	7,27bC	7,47cC	9,37bA	12,97aC	27,11bB	32,68dA	27,46eB
Org. - Ozônio 5'	8,95aC	8,67aC	9,23aB	11,35aA	12,97aC	37,17aB	45,38bA	39,78cB
Org. - Ozônio 10'	8,95aA	6,8cB	9,03aA	8,73cA	12,97aC	27,71bB	52,42aA	25,87eB
Cv. - Água	8,67aB	6,47cC	6,43dC	9,75bA	12,97aB	16,72cB	45,94bA	43,45cA
Cv. - Cloro	8,67aA	4,74eC	7,37cB	8,60cA	12,97aC	13,87cC	39,92cB	48,48bA
Cv. - Ozônio 5'	8,67aA	6,83cD	7,53cC	8,20dB	12,97aB	14,49cB	47,52bA	44,87bA
Cv. - Ozônio 10'	8,67aB	7,43bC	7,70cC	9,40bA	12,97aC	13,76cC	47,36bB	56,51aA
C.V.	3,03				9,89			

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, ao nível 5%, pelo teste de Scott-Knott.

Os sistemas convencional e orgânico diferem na quantidade de irrigação recebida, nas quantidades de nutrientes aplicados na adubação e na matéria orgânica aplicada ao solo, principalmente, em relação ao nitrogênio, que juntamente com outros fatores, podem para influenciar a síntese de sólidos solúveis e outras substâncias (VALLVERDÚ-QUERALT et al., 2012). Geralmente, a adubação orgânica é mais rica em compostos contendo N, portanto, seria esperada uma redução geral nos teores de SS em brócolis orgânicos, entretanto, esse efeito não pode ser observado neste estudo. PY et al. (1984) citam que um aumento de N, que causa geralmente, redução na acidez dos vegetais, pode ou não reduzir os sólidos solúveis (SS). Os sólidos solúveis geralmente aumentam com o transcorrer da vida pós-colheita, por meio de processo biossintéticos, ou pela degradação de polissacarídeos (LIDSTER et al., 1980), o que pode explicar as variações observadas e não somente o efeito do sanitizante.

O uso de diferentes sanitizantes poderia ter apresentado efeito sobre o teor de SS, pois o efeito germicida em cloro não é seletivo e o ozônio possui dois modos de ação, um seletivo e outro não, assim a ação desses dois sanitizantes causariam danos a

célula vegetal contribuindo para a alteração das substâncias citoplasmáticas (CHIATONE et al., 2008), que influenciaria o teor de SS em brócolis; entretanto, esse efeito não pode ser claramente observado neste estudo.

Para os brócolis orgânicos, logo após a lavagem, independente do tipo de sanitizante usado, ocorreu aumento do ratio que se manteve até o dia 4 (Tabela 2).

Em todos os tratamentos de sanitização em brócolis convencionais ocorreu aumento do ratio após os tratamentos.

No dia 0 não houve diferenças significativas entre os modos de cultivo. Logo após a sanitização, os maiores valores de ratio foram observados em brócolis orgânicos, com maior valor encontrado no controle. No dia quatro somente os brócolis orgânicos tratados com água ozonizada por 10' apresentaram os maiores valores para o ratio, enquanto em brócolis convencionais no sétimo dia de avaliação, o maior valor de ratio foi observado em brócolis convencionais após sanitização com água ozonizada por 10'. Parece que essa concentração induz o aumento do ratio, seja em cultivo orgânico, ou convencional.

Neste trabalho, pelos resultados obtidos, o uso do ozônio não interferiu negativamente no ratio, não promovendo, dessa forma, detrimento desse parâmetro de qualidade. Em pimentões armazenados em temperatura ambiente e em câmara fria, também foi relatado aumento dos valores de ratio durante o período de avaliação, que é uma forma de se avaliar o sabor, pois de acordo com JADOSKI et al. (2011), quanto maiores os valores para o ratio (SS/AT), melhor qualidade no paladar de hortaliças e frutas.

A análise de minerais realizada logo após a sanitização mostra que não houve efeito do cultivo ou dos sanitizantes nos teores de minerais, cobre, manganês e zinco, em brócolis orgânicos e convencionais (Tabela 3).

**Tabela 3.** Teores de Cu, Mn e Zn ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) em brócolis produzidos de modo convencional e orgânico, submetidos a tratamentos de sanitização e mantidos em câmara fria por sete dias.

Tratamentos	Minerais		
	Cu	Mn	Zn
Orgânico	5,20a	26,0a	40,2a
Convencional	4,8a	21,8 <sup>a</sup>	46,2a
C.V. (%)	21,91	13,62	19,22

As médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre

si ( $p < 5\%$ ), pelo teste de Scott-Knott.

Em revisão sobre orgânicos, WORTHINGTON (2001) contabilizou 41 estudos sobre os conteúdos de minerais em alimentos produzidos nos modos de cultivos orgânicos em relação aos convencionais e os resultados indicam que para cobre e zinco, em torno de 10% dos trabalhos, os maiores valores para esses minerais se encontravam em alimentos orgânicos, também diferente dos dados obtidos para os nossos estudos. Em relação ao Mn, o mesmo autor verificou que em torno de 50% dos trabalhos estudados também apresentaram maiores teores em vegetais orgânicos, do que em convencionais, também diferente dos dados obtidos nesta pesquisa.

Outros trabalhos também não relatam diferenças significativas para manganês e zinco, como o estudo em folhas e caule de *Vitis vinifera* L. cultivados em modos de cultivo orgânico e convencional (NIKOLAIDOU et al., 2010). Resultados semelhantes foram obtidos por WARMAN & HAVARD (1997), onde estudos com batatas e milho produzidos nos modos de cultivo orgânico e convencional, por três anos consecutivos,

não mostraram diferenças significativas para os teores de Cu, Mn e Zn nas folhas dos tubérculos e nos milhos analisados.

Para os organoclorados e outros pesticidas não houve diferença entre os dois modos de cultivo, orgânico e convencional, nos brócolis estudados neste trabalho, já que não foram encontrados qualitativamente qualquer dos pesticidas analisados nos vegetais. Outros trabalhos relatam a presença de contaminantes em vegetais cultivados de modo convencional, como o estudo com beterrabas oriundas dos modos de cultivo orgânico e convencional, que foram encontrados organoclorados em folhas e cascas (ROSSETTO et al., 2009).

A ausência de pesticidas, realizada na forma qualitativa, foi observada tanto em vegetais orgânicos, como convencionais. Análise qualitativa mostrando ausência de pesticidas em orgânicos foi mostrada por LIMA et al., (2012). Esse dado é importante para a comprovação do modo de cultivo orgânico, assim como, é um dado fundamental para os consumidores de brócolis convencionais. Certamente, caso tenham usados os pesticidas das classes estudadas, eles já tinham sido degradados, ou ainda, pode ser que a lavagem tenha sido eficiente no tratamento. Assim, esse fator não foi importante para a qualidade estudada neste trabalho.

Foi detectada a presença de fungos em brócolis convencionais, imersos em água de abastecimento e em água clorada (Tabela 7). Em tratamentos com ozônio, nos dois tempos de imersão, não houve crescimento de fungos nas amostras avaliadas. Logo após os tratamentos já ocorreu a eliminação dos fungos. Resultados semelhantes foram observados em brócolis orgânicos. Os nossos resultados mostram a eficiência do ozônio na eliminação de fungos, porém outros trabalhos mostram que mesmo aumentando o tempo de exposição, ocorre o aparecimento de fungos, coliformes totais e

*Staphylococcus aureus* (NAJAFI & KHODAPARAST, 2009). Em pós-colheita, a presença de micro-organismos pode comprometer a vida útil dos vegetais e o uso de ozônio para eliminação de fungos pode ser recomendada para brócolis.

**Tabela 7.** Detecção de fungos em brócolis submetidos à tratamentos de sanitização e mantido em câmara fria por 7 dias.

Tratamentos	Dias de Conservação			
	0	1	4	7
Org.- Água	+	+	+	+
Org. - Cloro	+	-	+	+
Org. – Ozônio 5'	+	-	-	-
Org. – Ozônio 10'	+	-	-	-
Cv. - Água	+	+	+	+
Cv. – Cloro	+	+	-	-
Cv. – Ozônio 5'	+	-	-	-
Cv. – Ozônio 10'	+	+	-	-

Presença (+) e ausência (-) de fungos.

Em brócolis convencionais os tratamentos com água ozonizada por 5 e 10 minutos foram eficientes na diminuição da carga microbiana para *Staphylococcus aureus* (Tabela 8) em relação ao tratamento com água clorada, durante todo o período experimental para brócolis orgânicos. A eficiência do ozônio também pode ser verificada nos brócolis convencionais.

**Tabela 8.** Detecção de *Staphylococcus aureus* (UFC g<sup>-1</sup>) em brócolis submetidos à tratamentos de sanitização e mantido em câmara fria por 7 dias.

Tratamentos	Dias de Conservação			
	0	1	4	7
Org.- Água	2,2x10 <sup>4</sup>	<10	<10	<10
Org. - Cloro	2,2x10 <sup>4</sup>	1,7x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>3</sup>	3,7x10 <sup>2</sup>
Org. – Ozônio 5'	2,2x10 <sup>4</sup>	<10	<10	<10
Org. – Ozônio 10'	2,2x10 <sup>4</sup>	<10	<10	<10
Cv. - Água	1,0x10 <sup>2</sup>	7,5x10 <sup>3</sup>	7,6x10 <sup>3</sup>	5,7x10 <sup>3</sup>
Cv. – Cloro	1,0x10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10
Cv. – Ozônio 5'	1,0x10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10
Cv. – Ozônio 10'	1,0x10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10

Verificou-se que as amostras analisadas não apresentaram a presença das *Salmonella* sp. A qualidade higiênico-sanitária dos brócolis orgânicos e convencionais

mantiveram-se dentro dos padrões de aceitabilidade para o consumo humano em relação à ausência de contaminação por *Salmonella* (ANVISA,2012).

Em melões catalupo maduro e não maduros, expostos a ozônio gasoso (10.000 ppm durante 30 min sob vácuo) reduziu a carga microbiana de *Salmonella*, com um máximo de redução de 4,2 e 2,8 log CFU (SELMA et al., 2008).

**Tabela 9.** Detecção de *Salmonella* sp. em brócolis submetidos a tratamentos de sanitização e mantido em câmara fria por 7 dias.

Tratamentos	Dias de Conservação			
	0	1	4	7
Org.- Água	-	-	-	-
Org. - Cloro	-	-	-	-
Org. – Ozônio 5'	-	-	-	-
Org. – Ozônio 10'	-	-	-	-
Cv. - Água	-	-	-	-
Cv. – Cloro	-	-	-	-
Cv. – Ozônio 5'	-	-	-	-
Cv. – Ozônio 10'	-	-	-	-

Presença (+) e ausência (-).

Para coliformes totais e termotolerantes (Tabelas 10 e 11) em brócolis convencionais os tratamentos de sanitização diminuíram consideravelmente o número após a submissão aos tratamentos tanto em brócolis orgânicos quanto em brócolis convencionais.

Verificou-se nas amostras analisadas não obtiveram contagens microbiológicas para a *E. coli* durante o período de armazenamento (Tabela 12 foi isso mesmo?). Os brócolis orgânicos e convencionais armazenados por sete dias mantiveram-se dentro dos padrões de aceitabilidade para o consumo humano em relação à qualidade fitossanitária segundo a ANVISA (2012), em relação à contaminação por coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*. Outros estudos também afirmam a ação do ozônio como sanitizante eficiente. YUK et al. (2007) estudando o efeito do ozônio e/ou ácido cítrico



em cogumelos, observaram que a combinação do ozônio com ácido cítrico foi mais efetivo na eliminação da presença de *E. coli* do que somente o tratamento com ozônio. Em alface sanitizado com ozônio e cloro, os tratamentos com ozônio e cloro induziram a redução de coliformes em comparação com lavagem com água (BELTRÁN et al., 2005). Assim, diante dos resultados obtidos, o ozônio foi eficiente para sanitizar os brócolis orgânicos e convencionais.

**Tabela 10.** Detecção de Coliformes totais (NMP/g) em brócolis submetidos a tratamentos de sanitização e mantido em câmara fria por 7 dias.

Tratamentos	Dias de Conservação		
	0	1	7
Org.- Água	$9,1 \times 10^8$	$2,4 \times 10^5$	$4,6 \times 10^7$
Org. - Cloro	$9,1 \times 10^8$	$2,4 \times 10^5$	$2,1 \times 10^5$
Org. – Ozônio 5'	$9,1 \times 10^8$	$2,4 \times 10^5$	$2,3 \times 10^7$
Org. – Ozônio 10'	$9,1 \times 10^8$	$2,4 \times 10^5$	$2,4 \times 10^6$
Cv. - Água	$1,5 \times 10^6$	$2,4 \times 10^5$	$2,3 \times 10^7$
Cv. – Cloro	$1,5 \times 10^6$	$2,4 \times 10^5$	$1,5 \times 10^7$
Cv. – Ozônio 5'	$1,5 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$	$1,1 \times 10^7$
Cv. – Ozônio 10'	$1,5 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$	$1,1 \times 10^7$

**Tabela 11.** Coliformes termotolerantes (NMP/g) em brócolis submetidos a tratamentos de sanitização e mantido em câmara fria por 7 dias.

Tratamentos	Dias de Conservação		
	0	1	7
Org.- Água	$4,6 \times 10^6$	93	$2,3 \times 10^6$
Org. - Cloro	$4,6 \times 10^6$	36	$1,1 \times 10^4$
Org. – Ozônio 5'	$4,6 \times 10^6$	43	$1,1 \times 10^5$
Org. – Ozônio 10'	$4,6 \times 10^6$	36	$9,1 \times 10^4$
Cv. - Água	$9,1 \times 10^4$	-	$4,6 \times 10^6$
Cv. – Cloro	$9,1 \times 10^4$	-	$2,4 \times 10^6$
Cv. – Ozônio 5'	$9,1 \times 10^4$	-	$4,6 \times 10^6$
Cv. – Ozônio 10'	$9,1 \times 10^4$	-	$4,6 \times 10^6$

**Tabela 12.** Detecção de *Escherichia coli* em brócolis submetidos a tratamentos de sanitização e mantido em câmara fria por 7 dias.

Tratamentos	Dias de Conservação			
	0	1	4	7
Org.- Água	-	-	-	-
Org. - Cloro	-	-	-	-
Org. – Ozônio 5'	-	-	-	-
Org. – Ozônio 10'	-	-	-	-
Cv. - Água	-	-	-	-
Cv. – Cloro	-	-	-	-
Cv. – Ozônio 5'	-	-	-	-
Cv. – Ozônio 10'	-	-	-	-

Presença (+) e ausência (-).

## CONCLUSÃO

O modo de cultivo aliado aos tratamentos de lavagem influenciou significativamente AT e os SS. Não houve influencia do modo de cultivo nos teores de Cu, Zn e Mn. O uso do ozônio não alterou as qualidades físico-químicas dos brócolis, independente do modo de cultivo, o que pode ser promissor, como alternativa para uso como sanitizante.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível) pelo fornecimento da bolsa de estudos e a CNPQ/Edital Universal (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo financiamento do projeto.

## REFERÊNCIAS

ARTÉS, F.; VALLEJO, F.; MARTÍNEZ, J. A. Quality of broccoli as influenced by film wrapping during shipment. **European Food Research Technology**; v. 213, p. 480-483, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s002170100390>. Acessado em: 05 mar. 2010. doi: 10.1007/s002170100390

ARAÚJO, F. M. M. C.; MACHADO, A. V.; CENA, V. S. Estudo do branqueamento e do uso de embalagens na conservação de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) minimamente processada. **Revista Verde**, v. 5, n. 1, p. 30-36, 2010. Disponível em: <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/389>. Acessado em: 13 jan. 2012.

AROUCHA, E. M. M.; GOIS, V. A.; LEITE, R. H. L.; SANTOS, M. C. A.; SOUZA, M. S. Acidez em frutas e hortaliças. **Revista Verde**, v. 5, n. 2, p. 1-4, 2010. Disponível em: <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/296>. Acessado em: 24 nov. 2011.

BELTRÁN, D.; SELMA, M. V.; MARÍN, A.; GIL, M. I. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5654-5663, 2005.

BORGHINI, R. G. & TORRES, E. A. F. S. Alimentos orgânicos: qualidade nutritiva e segurança do alimento. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 13, n. 2, p. 64-75, 2006. Disponível em: [http://www.unicamp.br/nepa/arquivo\\_san/Alimentos\\_organicos.pdf](http://www.unicamp.br/nepa/arquivo_san/Alimentos_organicos.pdf). Acessado em: 15 fev. 2012.

BRACKMANN, A.; TREVISAN, J. N.; MARTINS, G. A. K.; FREITAS, S. T.; MELLO, A. M. Postharvest quality of 'Teresópolis gigante' cauliflower treated with ethylene, ethylene absorbent and 1-methylcyclopropene. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1444-1447, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000600035>. Acessado em: 08 mar. 2011. doi: 10.1590/S0103-84782005000600035.

CHIATTONE, P. V.; TORRES, L. M.; ZAMBIAZI, R. C. Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. **Alimentação e Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 341-349, 2008.

Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/639/537>. Acessado em: 03 mar. 2012.

FERREIRA, S. M. R.; QUADROS, D. A.; KARKLE, E. N. L.; LIMA, J. J.; TULLIO, L. T.; FREITAS, R. J. S. Qualidade pós-colheita do tomate de mesa convencional e orgânico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 858-864, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000100033>. Acessado em: 12 abr. 2011. doi: 10.1590/S0101-20612010000100033.

FIDLER, J. C.; NORTH, C. J. The respiration of apples in CA storage conditions. **Bulletin de l'Institut International fu Froid**. Annexe, v. 1, p. 93-100, 1966.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Normas analíticas**: métodos físicos e químicos para análise de alimentos. 3ed. São Paulo: Instituto Adolf Lutz, 1985, 533 p. Disponível em: [http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial\\_2008.pdf](http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf). Acessado em: 25 mar. 2009.

JADOSKI, C. J.; SANTOS, C. M.; RODRIGUES, J. D.; ONO, O. E. Ação de reguladores vegetais, controle ambiental e armazenamento sobre parâmetros de conservação do pimentão em pós-colheita. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 4, n. 2, p. 99-121, 2011. Disponível em: <http://revistas.unicentro.br/index.php/repaa/article/viewFile/1408/1449>. Acessado em: 15 mar. 2012.

KLAIBER, R. G.; BAUR, S.; MAGEL, L.; HAMMES, W. P.; CARLE, R. Quality of shredded, packaged carrots as affected by different washing treatments. **Journal of**

**Food Science**, v. 69, n. 4, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb06358.x>. Acesso em: 03 mai. 2012. doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb06358.x.

LIDSTER, P.D.; FORSYTH, F.R.; LIGHTFOOT, H.J. Low oxygen and carbon dioxide atmospheres for storage of 'McIntosh' apples. **Canadian journal of Plant Science**, Ottawa, v.60, p.299-301, 1980.

LIMA, G. P. P. & VIANELLO, F. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 1-13, 2011. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2010.02436.x/abstract>. Acesso em: 15 nov. 2011. doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02436.x.

LIMA G.P.P.; DA SILVA J.T.; BARNHARD A.B.; PIROZZI D.C.Z.; FLEURI L.F.; VIANELLO F. Organic and conventional fertilisation procedures on the nitrate, antioxidants and pesticide content in parts of vegetables Food Additives and Contaminants: Part B, DOI:10.1080/19393210.2012.695398, in press. 2012

MAGKOS, F.; ARVANITI, F.; ZAMPELAS, A. Putting the safety of organic food into perspective. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, p.211-221, 2003. Disponível em: [http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FNRR%2FNRR16\\_02%2FS0954422403000155a.pdf&code=fc42b6730ef6a06b6ca4bcf617ba24df](http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FNRR%2FNRR16_02%2FS0954422403000155a.pdf&code=fc42b6730ef6a06b6ca4bcf617ba24df). Acessado em: 10 jan. 2012.

MORAES, E. C. F. et al. **Inseticidas organoclorados**. Manual de toxicologia analítica. São Paulo: Roca, 1991. p. 98-99.

MOREIRA, M. D. R.; ROURA, S. I.; DEL VALLE, C. E. Quality of Swiss chard produced by conventional and organic methods. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.** 36 (2003) 135–141.

NAGUIB, A. E. M.; EL-BAZ, F. K.; SALAMA, Z. A.; HANAA, H. A. E. B.; ALI, H. F.; GAAFAR, A. A. Enhancement of phenolics, flavonoids and glucosinolates of broccoli (*Brassica oleracea*, var. *Italica*) as antioxidants in response to organic and bio-organic fertilizers. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2012.03.001>. Acessado em: 09/06/2012. doi: 10.1016/j.jssas.2012.03.001.

NAJATI, M. B. H. & KHODAPARAST, M. H. H. Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. **Food Control**, v. 20, p. 27-30, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.01.010>. doi: 10.1016/j.foodcont.2008.01.010. Acessado em: 27 jun. 2012.

NASCIMENTO, H. M.; DELGADO, D. A.; BARBARIC, I. F. Avaliação da aplicação de agentes sanitizantes como controladores do crescimento microbiano na indústria alimentícia. **Revista Ceciliana**, v. 2, n. 1, p. 11-13, 2010. Disponível em: [http://sites.unisanta.br/revistaceciliana/edicao\\_03/1-2010-11-13.pdf](http://sites.unisanta.br/revistaceciliana/edicao_03/1-2010-11-13.pdf). Acessado em: 04 fev. 2012.

NEVES, R. C. F.; MORAES, P. M.; SALEH, M. A. D.; LOUREIRO, V. R.; BARROS, M. M.; PADILHA, C. C. F.; ALVESJORGE, S. M.; PADILHA, P. M. FAAS determination of metal nutrients in fish feed after ultrasound extraction. **Food Chemistry**, v. 113, p. 679-683, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.070>. Acessado em: 04 jun. 2010. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.07.070.

- NEVES, R. C. F., MORAES, P. M., SILVA, F. A., LOUREIRO, V. R., SALEH, M. A. D., PADILHA, C. C. F., Barros, M. M., PADILHA, P. M. Determination of copper in fish feed by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry using slurry sampling. **Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety**, v. 2, p. 274-279, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11694-008-9061-1>. Acessado em: 15 jun. 2010. doi: 10.1007/s11694-008-9061-1.
- NIKOLAIDOU, A. E.; PAVLATOU-VE, A. K.; KOSTOPOULOU, S. K.; MAMOLOS, A. P.; KALBURTI, K. L. Litter quality and decomposition of *Vitis vinifera* L. residues under organic and conventional farming systems. **European Journal of Soil Biology**, v. 46, p. 208-217, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.03.001>. Acessado em: 10 mai. 2011. doi: 10.1016/j.ejsobi.2010.03.001.
- ÖLMEZ, H.; AKBAS, M. Y. Optimization of ozone treatment of fresh-cut Green leaf lettuce. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 487-494, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.026>. Acessado em: 21 jun. 2012. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2008.07.026.
- PADULA, M. L.; CARCIOFI, B. A. M.; DANNENHAUER, C. E.; STRINGARI, G. B.; MONTEIRO, A. R. Influência de diferentes tipos de embalagens nas características físico-químicas e composição gasosa de brócolis (*Brassica oleracea* L. var *Italica*) orgânicos minimamente processados e armazenados sob refrigeração. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 259-268, 2006. Disponível em: <http://serv-bib.fcfa.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewArticle/272>. Acessado em: 05 mar. 2010.

PEREIRA, M. F. C., CANTILLANO, F. F., GUTIEREZ, A de S. D., ALMEIDA, G. V. B. de. Procedimentos pós-colheita na produção integrada de citros. **EMBRAPA**, documento 56, 2006. Disponível em: [http://200.128.102.2/publicacoes/documentos/documento\\_156.pdf](http://200.128.102.2/publicacoes/documentos/documento_156.pdf). Acessado em: 04 out. 2010.

PY, C., LACOEUILHE, J.J., TEISSON, C. (1984) **L'ananas: sa culture, sés produits**. Paris: Maisonneuve, 563p.

REIS, K. C.; ELIAS, H. H. S.; LIMA, L. C. O.; SILVA, J. D. S.; PEREIRA, J. Japanese cucumber (*Cucumis sativus* L.) submitted of the treatment with cassava starch film. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 3, p. 487-493, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542006000300015>. Acessado em: 25 set. 2009. doi: 10.1590/S1413-70542006000300015.

REN, H.; ENDO, H.; HAYASHI, T. The superiority of organically cultivated vegetables to general ones regarding antimutagenic activities. **Mutation Research**, v. 496, p. 83-88, 2001. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1383-5718\(01\)00229-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1383-5718(01)00229-7). Acessado em: 10 abr. 2012. doi: 10.1016/S1383-5718(01)00229-7.

SANTOS, R. H. S.; SILVA, F.; CASALI, V. W. D.; CONDÉ, R. A. Conservação pós-colheita de alface cultivada com composto orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 521-525, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2001000300017>. Acessado em: 05 mar. 2012. doi: 10.1590/S0100-204X2001000300017.

SCHUPLAN, W. Nutritional value of crops as influenced by organic and inorganic fertilizer. **Qualitas Plantarum**, v. 23, p. 333-358, 1974. Disponível em:



<http://dx.doi.org/10.1007/BF01095422>. Acessado em: 07 mar. 2012.  
doi: 10.1007/BF01095422.

SELMA, M. V.; IBÁÑEZ, A. M.; CANTWELL, M.; SUSLOW, T. Reduction by gaseous ozone of Salmonella and microbial flora associated with fresh-cut cantaloupe. **Food Microbiology**, v. 25, p. 558-565, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2008.02.006>. doi: 10.1016/j.fm.2008.02.006. Acessado em: 27 jun. 2012.

SILVA, F. A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. **Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance**. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

TRESSLER, D. J.; JOSLYN, M. A. **Fruits and vegetable juice processing**. Westport: AVI, 1961. 1028 p.

ROSSETTO, M. R. M., VIANELLO, F.; ROCHA, S. A.; LIMA, G. P. P. Antioxidant substances and pesticide in parts of beet organic and conventional manure. **African Journal of Plant Science**, v. 3, n. 11, p. 245-253, 2009. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/ajps/abstracts/abstracts/abstracts2009/Nov/Rossetto%20et%20al.htm>. Acessado em: 03 mar. 2012.

VALLVERDÚ-QUERALT, A.; MEDINA-REMÓN, A.; CASALS-RIBES, I.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Is there any difference between the phenolic content of organic and conventional tomato juices?. **Food Chemistry**, v. 130, p. 222-227, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.017>. Acessado em: 04 fev. 2012. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.07.017.

WARMAN, P. R. & HAVARD, D. A. Yield, vitamin and mineral contents of organically and conventionally grown potatoes and sweet corn. **Agriculture**,

**Ecosystems and Environment**, v. 68, p. 207-216, 1997. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-8809\(97\)00102-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-8809(97)00102-3). Acessado em: 01 mar. 2012. doi: 10.1016/S0167-8809(97)00102-3.

WORTHINGTON, V. Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables, and grains. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 7, n. 2, 2001, p. 161-173, 2001. Disponível em: [http://journeytoforever.org/farm\\_library/worthington-organic.pdf](http://journeytoforever.org/farm_library/worthington-organic.pdf). Acessado em: 14 mar. 2012.

YUK, H.; YOO, M.; YOON, J.; MARSHALL, D. L.; OH, D. Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on enoki mushroom. **Food Control**, v. 18, p. 548-553, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.01.004>. doi: 10.1016/j.foodcont.2006.01.004. Acessado em: 27 jun. 2012.



## **CAPÍTULO II<sup>1</sup>**

**Efeito da água ozonizada e clorada na pós-colheita de brócolis orgânicos e convencionais.**

**Effect of ozonated water and chlorine in postharvest organic and conventional.  
broccoli.**

<sup>1</sup>O artigo está redigido de acordo com as normas para publicação na revista internacional Postharvest Biology and Technology, excetuando-se o idioma.

## **Efeito da água ozonizada e clorada na pós-colheita de brócolis orgânicos e convencionais. Effect of ozonated water and chlorine in postharvest organic and conventional broccoli.**

### **Resumo**

Foi estudado o efeito da água clorada e ozonizada, em procedimentos de sanitização em brócolis orgânicos e convencionais, sobre a qualidade pós-colheita durante o armazenamento em câmara fria a  $6 \pm 1^\circ\text{C}$  por sete dias. As coletas foram realizadas no momento da chegada dos brócolis, após a submissão aos tratamentos de sanitização, no quarto e sétimo dia de armazenamento. O efeito da sanitização foi avaliado através de análises bioquímicas de teores de fenóis totais, flavonóides totais, vitamina C, clorofilas *a*, *b* e totais, capacidade antioxidante e poliaminas. O modo de cultivo e os tratamentos de sanitização influenciaram nos teores de fenóis, após a submissão aos tratamentos os brócolis orgânicos apresentaram maiores de teores de fenóis. O tratamento com água ozonizada por dez minutos em brócolis orgânicos obteve-se os menores teores de flavonóides. Os teores de vitamina foram maiores em brócolis convencionais e foram influenciados pela sanitização com água clorada e ozonizada. Os teores de clorofila *a* e *b* as clorofilas foram menos degradadas com a utilização de água ozonizada. O maior teor de putrescina foi encontrado em brócolis convencionais e de espermidina e espermina em brócolis orgânicos. A capacidade antioxidante foi maior em brócolis orgânicos independente dos tratamentos com água clorada e sanitizada. Portanto, os modos de cultivo e os tratamentos de sanitização influenciaram os antioxidantes naturais e nos teores de clorofila em brócolis armazenados em câmara fria.

**Palavras-chave:** *Brassica oleracea* var. *Italica*, ozônio, cloro, poliaminas

### **Abstract**

Studied the effect of chlorinated water, and ozonized, in sanitizing procedures in organic and conventional broccoli, on the postharvest quality during cold storage at  $6 \pm 1^\circ\text{C}$  for seven days. Samples were collected at the time of arrival of broccoli, after submission to the sanitation treatments in the fourth and seventh day of storage. The effect of sanitization was evaluated by biochemical analyzes of total phenols, flavonoids, vitamin C, chlorophyll *a*, *b* and total antioxidant capacity and polyamines.

The mode of cultivation and sanitation treatments influenced the phenols, after submission to the broccoli organic treatments showed higher levels of phenols. Treatment with ozone water for ten minutes in broccoli organic gave the lowest levels of flavonoids. The vitamin was higher in conventional broccoli and were influenced by sanitizing with chlorine water and ozonated. The chlorophyll contents of the chlorophyll a and b were less degraded with use of ozonated water. The higher content of putrescine was found in conventional broccoli and broccoli spermidine and spermine in organic. The antioxidant capacity was higher in organic broccoli independent of treatment with chlorinated water and sanitized. Therefore, methods of cultivation and sanitation treatments influenced the natural antioxidants and chlorophyll content in broccoli in cold storage.

**Keywords:** *Brassica oleracea* var. *Italica*, ozone, chlorine, polyamines

## 1. Introdução

Brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) é um vegetal com alto valor nutricional devido ao seu baixo conteúdo calórico, altos níveis de fibra dietética e ácido ascórbico, além de uma gama de substâncias consideradas anticarcinogênicas e antioxidantes (Hasperué et al., 2011) e os estudos com plantas dessa família em relação a epidemiologia, têm mostrado uma associação inversa entre o consumo de Brássicas e o risco de câncer (Koh et al., 2009).

Os brócolis são fonte de compostos fenólicos, além de apresentar quantidades significativas de outros fitoquímicos importantes, como carotenoides, ácido ascórbico (Naguib et al., 2012), glicosinolatos (Rossetto et al., 2012). Esses compostos são importantes, pois contribuem para a redução de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Naguib et al., 2012). Diversos estudos tem também demonstrado que esses compostos podem ser alterados caso os vegetais sejam cultivados de modo orgânico.

Vegetais cultivados de modo orgânico tem sido atrativo, devido a uma série de fatores que levam o consumidor a escolher esse tipo de vegetal para o consumo. As características principais para a escolha são o sabor, a maior vida pós-colheita e, naturalmente, ausência de resíduos químicos, que podem causar problemas, como alergias, entre outros (Ren et al., 2001).

Os brócolis são colhidos quando as inflorescências ainda estão imaturas, com as sépalas completamente em torno da flor. Os órgãos imaturos exigem um fornecimento contínuo de água, nutrientes e hormônios para manter a homeostase. Após a colheita, esses tipos de órgãos sofrem um estresse severo que leva ao aparecimento de sintomas de senescência (Hasperué et al., 2011). Um dos sintomas é o amarelecimento sendo uma limitação importante para a vida de prateleira e de qualidade (Aimla-or et al., 2010). Uma forma de prolongar a vida de brócolis após a colheita é o uso de atmosfera controlada. Diversos estudos mostram que este vegetal quando mantido sob refrigeração apresenta maiores teores de compostos fitoquímicos importantes, como carotenoides, clorofilas, vitamina C, além de apresentar maior atividade antioxidante (Nath et al., 2011).

Para manter a qualidade desses vegetais cultivados de modo orgânico, o uso do cloro não é recomendado devido a possibilidade de formar produtos tóxicos. Preocupações com segurança sobre a reação de cloro com resíduos orgânicos na formação dos produtos potencialmente mutagênicos ou cancerígenos, como os trihalometanos e cloramidas (Richardson et al., 2000) e seu impacto na saúde humana e segurança ambiental têm sido levantadas nos últimos anos (Beltrán et al., 2005). Assim, estudos com sanitizantes alternativos é interessante, como alternativa ao cloro e que mantenha a qualidade dos produtos orgânicos, sem interferir nos fitoquímicos presentes. O cloro é o desinfetante mais amplamente utilizado para produtos hortícolas, assim a aplicação de cloro é uma prática comum industrial em vários países (Klaiber et al., 2004). O ozônio vem ganhando espaço no processamento de alimentos devido ao seu alto poder sanificante e pela sua rápida degradação, não deixando resíduos nos alimentos tratados podendo servir como uma alternativa potencial para a substituição da utilização do cloro como sanitizante (Chiattonne et al., 2008; Baur et al., 2004). Por outro lado, o ozônio na sua auto-decomposição é acompanhado pela formação de espécies radicalares como hidroxil ( $\cdot\text{OH}$ ); hidroxiperoxil ( $\text{H}_2\text{O}\cdot$ ) e superóxidos ( $\cdot\text{O}_2$ ) (Hoigné & Bader, 1983).

Dessa forma, esta pesquisa objetivou estudar a influência do ozônio na composição química relacionada aos antioxidantes de brócolis cultivados de modo orgânico e convencional.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Material vegetal e condições de armazenamento

Brócolis (*Brassica oleraceae* L. cv Itálica) produzidos pelo cultivo orgânico foram obtidos de produtores certificados pelo IBD (Agricultural and Food Inspections and Certifications). Nas mesmas condições geográficas e mesma época, os brócolis oriundos de cultivo convencional foram adquiridos. As coordenadas geográficas aproximadas são latitude 22° 44' 50'' sul e longitude 48° 34' 00'' oeste de Greenwich, co, altitude em torno de 765 m. O clima da região é do tipo mesotérmico, subtropical úmido com estiagem no período do inverno. O total da precipitação média anual é de 1.534 mm, apresentando o total médio para o mês mais chuvoso (janeiro) de 242 mm e de 38 mm para os meses mais secos (julho e agosto). A temperatura média anual é de 21°C.

Para assegurar a comparação, foram adquiridas plantas de a mesma cultivar e com a mesma idade fisiológica. Os vegetais foram colhidos nas primeiras horas da manhã, selecionados e transportados, imediatamente para o laboratório.

Os brócolis, após serem selecionados, lavados para retirada de impurezas maiores, foram submetidos aos tratamentos de sanitização com cloro e dois tempos de ozonização, além do controle. No tratamento com cloro, os brócolis foram imersos em água contendo hipoclorito de sódio a 0,1% por 5 minutos e nos tratamentos com ozônio, foram imersos em container de 186 L, acoplado a um gerador de ozônio (Degradatox/OZ Engenharia, Indústria de Equipamentos Geradores de Ozônio- LTDA, Porto Alegre, RS) por 5 e 10 minutos. O controle consistiu de imersão dos brócolis em água de abastecimento público por 5 minutos.

Os tratamentos de imersão utilizaram o mesmo container que gerava ozônio (Figura 1), que era constituído de um tanque de plástico, contendo uma bomba centrífuga que recircula o líquido no interior do tanque.



**Figura 1.** Ozonizador acoplado em tanque de água e com circulação de água movimentada por bomba hidráulica. **1.** Processo de inserção de água do abastecimento público no tanque e **2.** Tanque de água lacrado e início do processo de ozonização da água e sanitização dos vegetais – 2010 (Foto: MANOEL, L. 2010).

Para a geração do ozônio, o fluxo de água gera vácuo por onde é sugado o ozônio gerado no Gerador de ozônio, (constituído de um tubo dielétrico onde o oxigênio é submetido a uma descarga elétrica que transforma  $O_2$  em  $O_3$  (ozônio), que então é injetado na água em container de 186 L, para tratamento dos produtos.

Após os tratamentos de imersão, os brócolis foram selecionados novamente, reunidos em maços e armazenados câmara fria por sete dias, a temperatura de  $6 \pm 1^\circ C$ , com umidade relativa do ar a  $93 \pm 1 \%$ .

As coletas foram realizadas assim que os brócolis chegaram do campo (Dia 0), logo após a submissão aos tratamentos (Dia 1) e nos dia 4 e 7 durante o armazenamento. O material vegetal coletado foi imerso em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a  $-20 \pm 1^\circ C$ , para posterior análise do teor de fenóis totais, flavonóides totais, vitamina C, , clorofilas *a* e *b*, poliaminas e capacidade antioxidante.

## 2.2. Teores de Fenóis Totais

A análise de fenóis totais foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico com o uso do reativo de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi Jr., 1965). Amostras do material seco e moído foram pesadas e colocadas em tubos de centrífuga, contendo acetona 50%. Em seguida foram levados para banho ultrassônico por 20 minutos e posteriormente centrifugados a  $6.000 \times g$  (HETTICH ZENTRIFUGEN MIKRO 220R)



durante 10 minutos e o sobrenadante foi recolhido. O precipitado foi re-extraído e os sobrenadantes combinados. Alíquotas de 0,1 mL do sobrenadante foram transferidas para tubos de ensaio, juntamente com 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,5 mL de solução saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Após 1 hora de reação (completa precipitação do carbonato) a leitura de absorbância foi realizada a 725 nm (PHARMACIA BIOTECH ULTROSPEC 2000) e os resultados expressos em  $\mu\text{g}$  fenóis  $\text{g}^{-1}$  massa seca, em equivalente de ácido gálico.

### 2.3. Teores de Flavonóides Totais

A extração para análise dos teores dos flavonóides totais foi feita de acordo com o método de Awad et al. (2000), segundo as adaptações realizadas por Popova et al. (2004). Amostras de material fresco foram maceradas em nitrogênio líquido, pesadas e adicionado metanol acidificado 10%. Posteriormente, foram levadas para banho ultrassônico durante 30 minutos e adicionado cloreto de alumínio 5%, centrifugadas por 20 minutos a 10000 x g (JOUAN MR 18 12). Em seguida, as amostras foram filtradas e a leitura de absorbância realizada a 425 nm. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g}$  flavonóides  $\text{g}^{-1}$  massa fresca, em equivalente de rutina.

### 2.4. Teores de Vitamina C

O método utilizado para a determinação de vitamina C foi o de Terada et al. (1978), com algumas modificações. As amostras frescas pulverizadas em nitrogênio líquido foram pesadas 250 mg, homogeneizadas com 3 mL de ácido oxálico (0,5%) durante 20 segundos. Em seguida, foram submetidas à centrifugação a 6.000 x g (HETTICH ZENTRIFUGEN MIKRO 220R) por 20 minutos a 4°C. Alíquota de 1 mL do sobrenadante foi combinado com 150  $\mu\text{L}$  de uma solução aquosa a 0,25% de 2,6-diclorofenolindofenol, 1 mL de uma solução de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 9N e 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPH) (2 g em 100 mL água) e com 50  $\mu\text{L}$  de tiouréia a 10% diluída em solução de etanol (EtOH) a 50%. A mistura foi homogeneizada e submetida a banho fervente por 15 minutos e após o resfriamento, foi adicionado 5 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) a 85% e a leitura procedida à 520 nm. Os resultados foram comparados com a curva de calibração de ácido ascórbico ( $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em ácido oxálico a 0,5%.

### 2.5. Teores de clorofilas a, b e total

A extração das clorofilas a e b foi realizada a partir da matéria fresca segundo o método validado por Nagata e Yamashita (1992), que se basearam no coeficiente de absortividade molar dos pigmentos: clorofilas em solução de extração de acetona-hexano na proporção de (4:6). As amostras foram pulverizadas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em mini-turrax (MARCONI) com 4 mL de acetona e 6 mL de hexano, durante um minuto. A extração foi conduzida protegida da luz. Em seguida, as amostras foram submetidas às leituras na região do visível a 663 (clorofila a), 645 (clorofila b) nanômetros (SPECTROPHOTOMETER SP2000 UV, BEL PHOTONICS 2000 UV). Os valores de absorbância foram convertidos em mg/100 g, com base nas fórmulas:

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{mol. mL}^{-1}) = 0,999(A_{663}) - 0,0989(A_{645})$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{mol. mL}^{-1}) = -0,328(A_{663}) + 1,77(A_{645})$$

## 2.6. Capacidade Antioxidante (DPPH)

Para determinação do potencial antioxidante foi utilizada a metodologia de Brand-Williams et al. (1995) modificado por Rosseto et al. (2009). A solução de DPPH foi preparada a  $2,10^{-4}$  g mL<sup>-1</sup> (0,0100 mg de DPPH em 50 mL de etanol a 99,8%). Para a extração foram pesados 1,0 g da amostra fresca de brócolis e diluídas em 10 mL de etanol a 99,8% em tubo para centrífuga. As amostras foram centrifugadas a 2.000 x g (HETTICH ZENTRIFUGEN MIKRO 220R) por 10 minutos a 5°C. Alíquota de 0,500 µL do sobrenadante foi combinado com 3 mL de etanol P.A.. Adicionados 300 µL de DPPH  $2 \times 10^{-4}$  g.mL<sup>-1</sup>, após a homogeneização, os tubos de ensaios foram armazenados no escuro por 60 minutos. Um controle negativo foi feito com o DPPH a 0,3mM em etanol para observar o decaimento do radical contra os antioxidantes doadores. A leitura obtida a 517 nm, foi convertida em porcentagem de atividade antioxidante pela fórmula:

Uma curva de calibração foi preparada com 20, 40, 80, 120 e 160 µmol de Trolox e os resultados foram expressos em µM equivalentes de TROLOX ug/g amostra (TEAC).

$$\% \text{ DPPH reduzido} = \left( \frac{\text{Abs Branco} - \text{Abs Amostra}}{\text{Abs Branco}} \right) \cdot 100$$

## 2.7. Teores de Poliaminas

Para o teor de poliaminas, foi usado o método descrito em Lima et al. (2009). As amostras congeladas em nitrogênio líquido foram maceradas até obtenção de um pó fino.

Após pesagem, o material fresco foi homogeneizado por um minuto, em ácido perclórico gelado 5 % (v/v), usando turrax (Marconi). Após centrifugação por 20 minutos a 4° C, ao sobrenadante foram adicionados cloreto de dansila (400 µL) (Sigma-Aldrich) e carbonato de sódio saturado (200 µL) (Merck). Após 16 horas em temperatura ambiente, foi adicionada prolina (100 µL) (Sigma-Aldrich) e a mistura foi mantida por 30 minutos no escuro, à temperatura ambiente. Tolueno (Merck) 0,5 mL foi usado para extrair as poliaminas dansiladas e alíquotas sendo 30 µl de amostra e 5 µl do padrão foram aplicadas em placas de cromatografia de camada delgada (placas de vidro recobertas por sílica Gel 60G – MACHEREY-NAGEL (20 x 20 cm) e submetidas à separação em cubas de vidro, contendo clorofórmio: trietilamina (10:1) (Merck). Padrões de putrescina, espermidina e espermina (Sigma-Aldrich) foram submetidos ao mesmo processo. As poliaminas foram quantificadas, por comparação com os padrões, também aplicados nas placas, por espectroscopia de emissão de fluorescência (excitação em 350 nm e medida de emissão em 495 nm), no “Video Documentation System”, utilizando o programa “Software Image Máster”, versão 2.0 da “Amersham Pharmacia Biotech” 1995, 1996. Os teores de poliaminas livres foram expressos em µg g<sup>-1</sup> de matéria fresca.

## 2.8. Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado constituído de 8 tratamentos: brócolis orgânicos imersos em água por 5', em água clorada a 0,1% por 5' e água ozonizada por 5 e 10' e brócolis imersos em água por 5', em água clorada a 0,1% por 5' e água ozonizada por 5 e 10'. Cada tratamento possuía três repetições, constituído de dois maços comerciais de brócolis por repetição. Foram realizadas 4 coletas, sendo que a primeira ocorreu no dia da chegada das plantas do campo, sem tratamentos, recebendo a denominação 0. Logo após a exposição aos tratamentos, foi realizada a primeira coleta de amostras, denominada 1 e as plantas foram tratadas e levadas para câmara fria. As próximas retiradas foram no quarto e sétimo dia de armazenamento para as determinações propostas. As extrações foram feitas em triplicatas para cada uma das repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott ( $p < 0.05$ ) pelo programa Assistat versão 7.6 Beta (Silva, 2009).

## 3. Resultados e Discussão

Na caracterização (dia 0) dos brócolis orgânicos e convencionais, os vegetais cultivados em sistema convencional apresentaram maiores teores de fenóis (Tabela 1). Após a submissão aos tratamentos (dia 1), não houve diferenças significativas entre os tratamentos de sanitização e os modos de cultivo. Inicialmente, nos primeiros dias, o teor de fenóis ocorreu em maior quantidade nos brócolis de origem convencional. Neste trabalho, o uso de sanitizante ozônio ou cloro não alteraram de modo expressivo o teor de fenóis quando se compara os vegetais até o momento após a imersão nos sanitizantes, porém, com os tratamentos e o armazenamento, há um aumento e manutenção no teor de fenóis totais em brócolis orgânicos tratados com cloro e ozônio por 5 minutos. Esses resultados podem ser atribuídos ao potencial do vegetal produzido de modo orgânico em aumentar os compostos fitoquímicos relacionados com a presença de oxidantes. Em estudos com alguns frutos tropicais sanitizados com diferentes concentrações de ozônio, o nível de compostos fenólicos tenderam a diminuir em goiaba e banana e esse efeito é atribuído a ação dos compostos fenólicos em eliminar os radicais livres promovidos pela formação da decomposição de bioprodutos do ozônio (Allothman et al., 2010).

Em todas as épocas de análise, independente dos tratamentos, os valores encontrados de fenóis totais foram superior aos descritos por Costa et al. (2006), estudando a pós-colheita de brócolis armazenados a 20° C. Provavelmente, a diferença foi devida principalmente a temperatura usada pelos pesquisadores, que certamente, deve ter induzido a senescência e, assim, alterado os níveis dos fitoquímicos. Os autores descrevem valores no dia da colheita de 0,69 g kg<sup>-1</sup> e de 1,26 g kg<sup>-1</sup> ao final do experimento, enquanto que, nessa pesquisa, os valores atingiram valores superiores, porém sem aumento com o tempo de armazenamento, diferente dos relatos de aumento do teor de fenóis totais nos últimos dias de armazenamento de brócolis 'Itálica' a 5 °C descrito por Starzynska et al. (2003).

Não ocorreu interação entre sanitização e armazenamento quando se analisa os níveis de flavonóides em brócolis (Tabela 1). Ausência de efeito significativo no uso de agentes sanitizantes, como cloro e ozônio, no teor de fenóis e flavonoides foram previamente descritos. O uso de cloro e ozônio não induziram diferenças nos níveis de fenóis, nem em flavonoides em rúcula (Martinez-Sanchez et al., 2007) ou em alface (Bletrán et al., 2005).

**Tabela 1.** Fenóis e flavonóides totais (mg g<sup>-1</sup> massa fresca) em brócolis produzidos de modo convencional e orgânico, submetidos a tratamentos de sanitização e mantidos em câmara fria por sete dias.

Tratamentos	Fenóis Totais Dias de Análise				Flavonóides Totais Dias de Análise				
	0	1	4	7	0	1	4	7	Médias
Org./Água	1,85bB	2,28aA	1,63bB	1,76aB	0,021	0,018	0,019	0,020	0,019a
Org./Cloro	1,85bA	2,05aA	2,01aA	1,98aA	0,021	0,014	0,017	0,023	0,019a
Org./Ozôn 5'	1,85bB	2,03aA	2,32aA	1,96aB	0,021	0,014	0,022	0,021	0,020a
Org./Ozôn 10'	1,85bB	1,93aB	2,31aA	1,90aB	0,021	0,012	0,012	0,018	0,016b
Conv./Água	2,13aA	1,94aA	1,53bB	1,33bB	0,015	0,013	0,015	0,012	0,014b
Conv./Cloro	2,13aA	2,36aA	1,39bB	1,62bB	0,015	0,011	0,013	0,015	0,014b
Conv./Ozôn 5'	2,13aA	2,08aA	1,55bB	1,57bB	0,015	0,013	0,013	0,011	0,013b
Conv./Ozôn 10'	2,13aA	2,19aA	1,53bB	1,46bB	0,015	0,011	0,013	0,011	0,013b
<b>C.V.(%)</b>	11,20				0,018 <sup>a</sup>	0,013B	0,016A	0,016A	23,23

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, ao nível 5%, pelo teste de Scott-Knott.

Há uma nítida diferença significativa entre os níveis de flavonoides em brócolis orgânicos e convencionais, exceto para os brócolis orgânicos tratados com ozônio por 10 minutos. O teor de flavonóides normalmente são maiores em vegetais produzidos organicamente do que em convencionais (Winter e Davis, 2006; Lima e Vianello, 2011), semelhante ao observado neste trabalho. Estudos com outras hortaliças mostram que na avaliação da produção de tomates orgânicos e convencionais durante dez anos, os níveis de flavonóides aumentaram ao longo do tempo em amostras de tomates orgânicos, enquanto não variou significativamente nos tomates convencionais (Mitchell et al., 2006). O teor de polifenóis em plantas é influenciado pela cultura e condições de cultivo e época de colheita. Vários estudos mostram que os vegetais orgânicos tendem a mostrar maior teor de compostos fenólicos, quando comparados com os cultivados em modo convencional (Picchi et al., 2012; Arbos et al., 2010). Diferenças fundamentais entre os sistemas de produção orgânico e convencional, especialmente no manejo da fertilidade do solo, podem afetar a composição nutritiva das plantas, incluindo metabólitos secundários de plantas (Valldverdú-Queralt et al., 2012).

Os brócolis convencionais tenderam a apresentar menores teores de fenóis solúveis a partir do quarto dia de armazenamento, porém não ocorreu essa diferença quando se analisou o teor de flavonoides. Esses resultados mostram o possível efeito da adubação orgânica como indutor da síntese de compostos fenólicos totais. Alguns estudos afirmam que durante o cultivo orgânico, devido a ausência de pesticidas, que diminuem a ação de predadores, ocorre um aumento dos compostos fenólicos, incluindo

os flavonoides (Young et al., 1999; Lima e Vianello, 2011), como também ocorreu neste trabalho, independente do sanitizante usado. De acordo com Sousa et al. (2008), culturas orgânicas tendem a apresentar alteração na via do ácido chiquímico, alterando os teores de polifenóis. Naguib et al. (2012) encontraram aumento de 151% nos fenóis de brócolis *Italica* orgânicos, constatando a influência do cultivo no aumento de compostos do metabolismo secundário.

Os teores de vitamina C foram maiores em brócolis convencionais que em orgânicos (Tabela 2) durante a caracterização. Essa mesma tendência é observada após os tratamentos, exceto quando se usou cloro para tratamento de brócolis orgânicos. Os tratamentos com ozônio por 5 ou 10 minutos não promoveram alterações marcantes nos níveis de vitamina C em brócolis orgânicos, podendo ser um fator positivo para o uso de ozônio na sanitização de brócolis. Nota-se um incremento no quarto dia com o uso do ozônio 10 minutos. O uso de ozônio por 5 minutos durante a sanitização de brócolis convencionais não induziu alterações significativas nos teores de vitamina C.

**Tabela 2.** Vitamina C ( $\text{mg g}^{-1}$  massa fresca) em brócolis produzidos de modo convencional e orgânico, submetidos a tratamentos de sanitização e mantidos em câmara fria por sete dias.

Tratamentos	Dias de Análise			
	0	1	4	7
Org./Água	1,24bB	1,30bB	2,65aA	3,52aA
Org./Cloro	1,24bB	2,46aA	1,26bB	1,22cB
Org./Ozôn 5'	1,24bB	1,17bB	1,69bB	2,50bA
Org./Ozôn 10'	1,24bB	1,02bB	2,29aA	1,46cB
Conv./Água	3,51aA	2,92aA	1,33bB	1,35cB
Conv./Cloro	3,51aA	3,65aA	0,51bB	1,40cB
Conv./Ozôn 5'	3,51aA	3,40aA	2,79aA	2,33bA
Conv./Ozôn 10'	3,51aA	3,16aA	3,51aA	1,45cB
	27,84			

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, ao nível 5%, pelo teste de Scott-Knott.

Nossos resultados não mostram um efeito negativo do ozônio nos teores de vitamina C em brócolis seja orgânico, ou convencional, como descrito na literatura, isto é, que este tipo de sanitizante pode induzir diminuição nos níveis de vitamina C em rúcula (Martinez-Sanchez et al., 2006). Por outro lado, Bertran et al. (2005a) não encontraram diferenças nos níveis de vitamina C em alface submetidas a tratamentos

com ozônio, ou cloro, enquanto que, em outro trabalho usando ozônio (Bertran et al., 2005b) é descrito diminuição do teor de vitamina C em alfaces.

Houve uma tendência inicial de maiores teores da vitamina C serem encontrados em brócolis convencionais, porém, com o armazenamento, essa tendência se inverteu, exceto no tratamento com ozônio por 5 minutos. Na literatura, há controvérsias em relação ao modo de cultivo (orgânico ou convencional) induzir diferenças nos teores de vitamina C. Hoefkens et al. (2010) não encontraram diferenças significativas para o teor de vitamina C entre os modos de cultivo orgânico e convencional em cenouras, tomates e batatas. Por outro lado, outros estudos mostram a superioridade das plantas cultivadas no sistema orgânico em relação a vitamina C, como alface, espinafre, folha de beterraba almeirão entre outros (Woese et al., 1997; Kumpulainen, 2001; Lima e Vianello, 2011).

Amarelecimento é a deterioração mais visível nos brócolis que normalmente ocorre com o progresso da degradação da clorofila (Kamosamphan et al., 2010). Nossos resultados mostram diminuição nos teores de clorofila *a* nos brócolis orgânicos e convencionais logo após a imersão em água, aumentando no último dia apenas para os brócolis orgânicos (Tabela 3). Aumento no teor de clorofila *b*, em brócolis orgânicos ao final do armazenamento também foi observado, sendo que os maiores teores foram em plantas tratadas com os sanitizantes. Como o cloro não é aceito como sanitizante em vegetais produzidos de modo orgânico, o ozônio, pelos resultados, poderia ser um bom sanitizante quando se visa manutenção da cor verde, um dos parâmetros de qualidade que influenciam a pós-colheita de brócolis.

Ocorreu uma diminuição dos níveis de ambas clorofilas analisadas nos brócolis de origem convencional. Os brócolis convencionais apresentaram maiores teores de clorofila *a* comparados com os orgânicos no dia da colheita e sem os tratamentos de sanitização. Logo após a submissão aos tratamentos, os brócolis orgânicos imersos em água ozonizada por 10' e os brócolis convencionais imersos somente em água, apresentaram os maiores teores de clorofila *a*. No quarto dia o uso de ozônio por 10 minutos e cloro induziram os menores valores de clorofila *a*, enquanto que no sétimo dia, os brócolis orgânicos imersos em de abastecimento e em água ozonizadas por 5 e 10' apresentaram os maiores teores de clorofila *a*.

**Tabela 3.** Clorofila *a* e clorofila *b* ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ ) em brócolis produzidos de modo convencional e orgânico, submetidos a tratamentos de sanitização e mantidos em câmara fria por sete dias.

Tratamentos	Clorofila <i>a</i>				Clorofila <i>b</i>			
	Dias de Análise				Dias de Análise			
	0	1	4	7	0	1	4	7
Org./Água	15,41bA	10,44cB	12,20aB	16,32aA	10,50bA	8,60bB	7,25aB	7,21cB
Org./Cloro	15,41bA	12,09cB	8,98bC	15,11aA	10,50bB	11,45aB	5,97bC	14,25aA
Org./Ozôn 5'	15,41bA	14,17bB	8,72bC	17,50aA	10,50bA	9,36bB	8,78aB	12,55bA
Org./Ozôn 10'	15,41bA	15,67aA	11,41aB	11,94bB	10,50bA	6,65cB	5,68bB	11,99bA
Conv./Água	18,94aA	16,84aA	11,41aB	6,50cC	13,84aA	8,37bB	6,47bB	3,29dC
Conv./Cloro	18,94aA	11,37cB	6,95cC	7,59cC	13,84aA	7,48bB	5,00bC	3,50dC
Conv./Ozôn 5'	18,94aA	7,99dB	10,41aB	9,48bB	13,84aA	5,86cB	6,49bB	3,17dC
Conv./Ozôn 10'	18,94aA	13,20bB	6,19cD	9,73bC	13,84aA	3,76dB	4,17bB	5,04dB
C.V.(%)	11,99				13,94			

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, ao nível 5%, pelo teste de Scott-Knott.

Na imersão em água de abastecimento os brócolis orgânicos mostraram diminuição dos níveis de clorofila *b* ao longo do período de armazenamento e em tratamento com água clorada os teores diminuíram no quarto dia. Nos tratamentos com água ozonizada por 5 e 10', os teores de clorofila *b* após a imersão apresentaram aumento no ultimo dia de análise.

Durante a pós-colheita de brócolis a perda da cor verde superficial do produto é observada, o que diminui a aceitação comercial das flores de brócolis (Hasperué et al., 2011). Neste trabalho, de acordo com os resultados, o uso de ozônio em brócolis orgânicos foi positivo para a manutenção de clorofila e, portanto, a cor verde do produto. Outro fator que pode ter colaborado, pode ter sido o armazenamento em baixa temperatura. Por outro lado, era de se esperar o mesmo efeito nos brócolis convencionais, porém, a temperatura não teve o mesmo efeito. Brócolis orgânicos apresentaram, ao analisar apenas a clorofila, menor deterioração, mesmo que submetido a sanitizantes que promovem indução de espécies radicalares (Hoigné e Bader, 1983). A deterioração em brócolis é diretamente correlacionada com a ausência de clorofila (Aiama-or et al., 2010), assim como, com a perda de massa. Neste trabalho, como não houve influência do cultivo na perda de massa (Figura 1), o cultivo orgânico pode ser mais indicado para período maior de armazenamento, por manter melhor a qualidade em relação a cor verde.



Diferente dos relatos encontrados que o sanitizante induz degradação de clorofila, os dados obtidos para brócolis orgânicos são positivos em relação aos tratamentos com ozônio. Por outro lado, os dados observados nos brócolis convencionais são semelhantes aos descritos em rúculas tratadas com diversos tipos de sanitizantes e armazenadas em câmara fria, onde houve uma diminuição significativa no decorrer do tempo para clorofilas a e b, porém não houve diferença entre os tratamentos de sanitização, mesmo com a utilização de ozônio (Martínez-Sánchez et al., 2006).

Outras substâncias que pode colaborar para o aumento do potencial antioxidante de um sistema, além de ser diretamente relacionada com a senescência são as poliaminas. Os tratamentos com água clorada e ozonizada por 5' não influenciaram os teores de putrescina (Tabela 4) em brócolis orgânicos nos dias avaliados, assim como em brócolis convencionais lavados apenas com água. Brócolis tratados com água ozonizada por 10' mostraram aumentos nos teores de putrescina a partir do tratamento. Diminuição nos teores dessa amina é observada nos demais tratamentos em brócolis convencionais, no final do período experimental.

Em brócolis orgânicos os teores de espermidina aumentaram após a lavagem com água e com ozônio por 5 e 10'. Em brócolis convencionais não houve diferença significativas durante o período de avaliação para todos os tratamentos de sanitização.

Brócolis orgânicos sanitizados com ozônio por 10 minutos mostraram diminuição dos teores de espermina (Tabela 4), semelhante aos dados obtidos para a lavagem em água. Em água clorada houve aumento dos teores de espermina. Em brócolis convencionais não houve diferenças significativas para os tratamentos nos dias avaliados.

Esses resultados mostram que espermidina e espermina de brócolis orgânicos são mais sensíveis ao armazenamento e aos tratamentos, se comparados com os brócolis orgânicos.

**Tabela 4.** Putrescina, espermidina e espermina ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em brócolis produzidos de modo convencional e orgânico, submetidos a tratamentos de sanitização e mantidos em câmara fria por sete dias.

Tratamentos	Dias de Análise								
	Putrescina			Espermidina			Espermina		
	0	1	7	0	1	7	0	1	7
Org./Água	24,9bA	20,1bA	24,1aA	39,10aB	30,1aB	81,9aA	178,2aA	26,7aB	41,1dB
Org./Cloro	24,9bA	23,6bA	25,3aA	39,10aA	34,4aA	53,7bA	178,2aB	34,4aC	253,7aA
Org./Ozôn 5'	24,9bA	30,7aA	27,9aA	39,10aB	44,5aB	66,8aA	178,2aA	54,9aB	180,2bA
Org./Ozôn 10'	24,9bB	26,7aA	28,4aA	39,10aB	31,7aB	71,6aA	178,2aA	28,3aC	98,1cB
Conv./Água	31,2aA	29,0aA	27,9aA	8,1bA	2,8bA	8,4cA	10,3bA	2,8aA	2,8dA
Conv./Cloro	31,2aA	28,8aA	21,7aB	8,1bA	2,2bA	4,1cA	10,3bA	2,6aA	11,0dA
Conv./Ozôn 5'	31,2aA	30,1aA	23,8aB	8,1bA	2,8bA	1,8cA	10,3bA	3,1aA	19,8dA
Conv./Ozôn 10'	31,2aA	28,6aA	24,7aB	8,1bA	3,1bA	1,6cA	10,3bA	3,7aA	3,9dA
C.V.(%)	11,3			39,3			46,2		

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, ao nível 5%, pelo teste de Scott-Knott.

Nossos resultados foram muito interessantes, os brócolis convencionais apresentaram maiores teores de putrescina, enquanto que maiores teores de espermidina e espermina foram encontrados em brócolis orgânicos. Numa soma para obtenção de poliaminas totais, seria verificado a presença maior das poliaminas em vegetais orgânicos. As poliaminas, principalmente, espermina e a espermidina tem um papel importante na divisão celular, organogênese, em resposta ao estresse e em relação a inibição da oxidação de lipídios (Santiago-Silva et al., 2011). Em plantas, as poliaminas tem mostrado um efeito anti-senescente, provavelmente por competir com o etileno pelo mesmo precursor comum, o S-adenosilmetionina (SAM) (Pradey et al., 2000). Essas substâncias estão envolvidas na regulação de muitos processos celulares, incluindo a replicação do DNA, a transcrição, tradução, proliferação de células de modulação, de atividades enzimáticas, balanço cátion-aniônico celular e estabilidade da membrana (Igarashi e Kashiwagi, 2010; He et al., 2008). Assim, como brócolis é um vegetal que apresenta síntese de etileno durante a senescência, os níveis de poliaminas encontrados neste trabalho poderia explicar a maior longevidade dos brócolis orgânicos, entretanto, mais estudos devem ser realizados. A partir dos resultados, poderíamos supor que esses níveis de poliaminas encontrados poderiam agir na manutenção das membranas, evitando a senescência e ainda, colaborando na manutenção dos níveis de clorofila.

É evidente que o sistema de produção orgânico é um modo de cultivo que além de favorecer o ecossistema, traz menores impactos ambientais, e diante destes estudos

soma-se a vantagem das plantas que estão neste ambiente acumularem maiores concentrações de substâncias funcionais, como os compostos fenólicos, e mesmo as poliaminas, entre outros, os quais contribuem de modo positivo na saúde da população. Além dessa constatação, neste trabalho notamos que o uso de ozônio, mesmo sendo um agente oxidante, não alterou os níveis de compostos fitoquímicos de brócolis orgânicos, o que poderia colaborar para melhorar a sua capacidade antioxidante.

O efeito do cultivo orgânico em manter os níveis de compostos químicos pode ter favorecido a capacidade antioxidante em brócolis. Compostos químicos como as vitaminas, polifenóis, entre outros, contribuem para a atividade antioxidante de um sistema. A capacidade antioxidante nas amostras recém-chegadas do campo foi maior em brócolis convencionais do que em orgânicos. Porém, no decorrer do período de armazenamento os valores inverteram e os maiores valores foram encontrados em brócolis orgânicos a partir do quarto dia de armazenamento (Tabela 5).

**Tabela 5.** Capacidade antioxidante (TEAC) em brócolis produzidos de modo convencional e orgânico, submetidos a tratamentos de sanitização e mantidos em câmara fria por sete dias.

Tratamentos	Dias de Análise			
	0	1	4	7
Org./Água	0,138bC	0,098eD	0,422aA	0,201bB
Org./Cloro	0,138bC	0,081eD	0,290bA	0,224aB
Org./Ozôn 5'	0,138bB	0,134dB	0,420aA	0,128cB
Org./Ozôn 10'	0,138bC	0,148cC	0,398aA	0,182bB
Conv./Água	0,263aA	0,168cC	0,154cC	0,190bB
Conv./Cloro	0,263aA	0,155cB	0,168cB	0,078dC
Conv./Ozôn 5'	0,263aA	0,187bB	0,176cB	0,108dC
Conv/Ozôn 10'	0,263aA	0,240cA	0,174cB	0,097dC
C.V.(%)	8,49			

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, ao nível 5%, pelo teste de Scott-Knott.

Em brócolis orgânicos, independente do tratamento, há um aumento na atividade antioxidante no quarto dia e estes vegetais apresentaram maiores valores em relação aos brócolis convencionais submetidos a tratamentos de sanitização a partir desse período.

Diversos trabalhos evidenciam que os produtos vegetais de origem orgânica apresentam maior atividade antioxidante, se comparados com aqueles cultivados de modo convencional. Em folhas de mirtilo, esse resultado foi descrito por Montalba et al. (2010) e os autores atribuem aos altos níveis de N solúvel encontrados

nos convencionais, que inibem a síntese de flavonoides e antocianinas, componentes químicos com alta atividade antioxidante. Em nosso estudo, o teor de compostos fenólicos observados a partir do quarto dia em brócolis orgânicos, assim como maior nível de flavonoides neste tipo de cultivo, assim como maiores teores de espermidina e espermina (poliaminas relacionadas com a divisão celular), possivelmente contribuíram para o resultado encontrado.

Outras pesquisas comprovam esse resultado, como os relatos em sucos de tomates produzidos organicamente e de modo convencional, onde as médias para a atividade antioxidante (DPPH) foram maiores em suco de tomates orgânicos (Vallderdú-Queralt et al., 2012).

Incrementos nos níveis de espécies reativas de oxigênio é um fator comum durante o armazenamento (Navabpour et al., 2003). A presença de substâncias ou enzimas que contribuem para o sistema antioxidante pode prevenir ou atrasar a senescência de tecidos (Hodges et al., 2001). Em brócolis cultivados de modo convencional os níveis da capacidade antioxidante diminuíram imediatamente após a colheita e não apresentou diferenças durante a fase experimental, que durou 5 dias (Hasperué et al., 2011). Neste trabalho, os brócolis orgânicos apresentaram os maiores valores para capacidade antioxidante total, o que poderia ser um indício de maior durabilidade e maior manutenção de suas qualidades durante os 7 dias de armazenamento em câmara fria, como foi encontrado para os teores de clorofila.

#### **4.0 Conclusões**

Este trabalho mostra o efeito da água clorada e do ozônio na sanitização dos brócolis oriundos do modo de cultivo orgânico e convencional e como esses efeitos podem ser relevantes sobre a vida pós-colheita de brócolis. Nós encontramos que os tratamentos de sanitização influenciaram nos teores de antioxidantes naturais, assim como na qualidade da manutenção das clorofilas *a* e *b* presentes nos brócolis. Esta última característica é extremamente importante, já que o amarelecimento dos brócolis é um fator importante para o não consumo do mesmo, pois indica a degradação, e conseqüentemente, a senescência deste vegetal. O modo de cultivo também, em vários parâmetros estudados, influenciou os teores de antioxidantes e na capacidade antioxidante dos brócolis.

**Referências**

- AIMLAR-OR, S.; KAEWSUKSAENG, S.; SHIGYO, M.; YAMAUCHI, N. 2010. Impact of UV-B irradiation on chlorophyll degradation and chlorophyll-degrading enzyme activities in stores broccoli (*Brassica oleracea* L. Italica Group) florets. **Food Chemistry**, v. 120, p. 645-652.
- ALOTHMAN, M.; KAUR, B.; FAZILAH, A.; BHAT, R.; KARIM, A. A. 2010. Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 666–671.
- ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. 2010. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 501-506.
- AWAD, MA; DE JAGER, A; VAN WESTING, LM. 2000. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. **Scientia Horticulturae**, v.83, p.249-263.
- BAUR, S.; KLAIBER, R.; HAMMES, W. P.; CARLE, R. 2004. Sensory and microbiological quality of shredded, packaged iceberg lettuce as affected by pre-washing procedures with chlorinated and ozonated water. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 5, p. 45-55.
- BELTRÁN, D.; SELMA, M. V.; MARÍN, A.; GIL, I. M. 2005. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5654-5663.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. 1995. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.-The quantitative analysis of phenolic constituents. **Lebensm Wiss Technology**, Oxford, v.28, p.25-30.
- COSTA, L.; VICENTE, A. R.; CIVELLO, P. M.; CHAVES, A. R.; MARTÍNEZ, G. A. 2006. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, p. 204–210.
- FLORES, H.E.; GALSTON. A.W. 1982. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. **Plant Physiology**, v. 69, p.701-706.

- HASPERUÉ, J. H.; CHAVES, A. R.; MARTÍNEZ, G. A. 2011. End of Day harvest delays postharvest senescence of broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v. 59, p. 64-70.
- HE, L.; BAN, Y.; INOUE, H.; MATSUDA, N.; LIU, J.; MORIGUCHI, T. 2008. Enhancement of spermidine content and antioxidant capacity in transgenic pear shoots overexpressing apple spermidina synthase in response to salinity and hyperosmosis. **Phytochemistry**, v. 69, p. 2133-2141.
- HOEFKENS, C.; SIOEN, I.; BAERT, K.; MEULENAER, B. D.; HENSUW, S. D.; VANDEKINDEREN, I.; DEVLIEGHERE, F.; OPSOMER, A.; VERBEKE, W.; CAMP, J. V. 2010. Consuming organic versus conventional vegetables: the effect on nutrient and contaminant intakes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 3058-3066.
- HOIGNÉ, J.; BADER, H. 1983. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—II: Dissociating organic compounds. *Water Research*, v. 17, n. 2, p. 185–194.
- Hodges, D. M.; Wismer, W. V.; Forney, C. F. 2001. Antioxidant responses in postharvest leaves of two cultivars of spinach (*Spinacia oleracea* L.) differing in their senescence rates. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 126 (2001), pp. 611–617.
- IGARASHI, K. & KASHIWAGI, K. 2010. Characteristics of cellular polyamine transport in prokaryotes and eukaryotes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 506-512.
- KLAIBER, R. G.; BAUR, S.; MAGEL, L.; HAMMES, W. P.; CARLE, R. 2004. Quality of shredded, packaged carrots as affected by different washing treatments. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 4.
- KOH, E.; WIMALASIRI, K. M. S.; CHASSY, A. W.; MITCHELL, A. E. 2009. Content of ascorbic acid, quercetina, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. **Journal of Food Composition and Analysis**, 22, p. 637-643.

- KUMPULAINEN J. 2001. Nutritional and toxicological quality comparison between organic and conventionally grown foodstuffs. **Proceedings of the International Fertilizer Society**, v.472, p.1-20.
- LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G.; OLIVEIRA, A. M. 1999. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agrícola**, v. 56, p. 21-26.
- LIMA, G. P. P. & VIANELLO, F. 2011. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 1-13.
- LIMA G.P.P.; DA SILVA J.T.; BARNHARD A.B.; PIROZZI D.C.Z.; FLEURI L.F.; VIANELLO F. 2012. Organic and conventional fertilization procedures on the nitrate, antioxidants and pesticide content in parts of vegetables. **Food Additives and Contaminants**. *In Press*. <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2012.695398>. Acessado em: 01 jun. 2012.
- MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A.; ALLENDE, A.; BENNETT, R. N.; FERRERES, F.; GIL, M. I. 2006. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. **Postharvest Biology and Technology**, v. 42, p. 86-97.
- MITCHELL, A. E.; HONG, Y.; KOH, E.; BARRETT, D. M.; BRYANT, D. E.; DENISON, R. F.; KAFFKA, S. 2007. Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in tomatoes. **J. Agricultural Food Chemistry**, v. 55, p. 6154-6159.
- MONTALBA, R.; ARRIAGADA, C.; ALVEAR, M.; ZÚÑIGA, G. E. 2010. Effects of conventional and organic nitrogen fertilizers on soil microbial activity, mycorrhizal colonization, leaf antioxidant content, and *Fusarium* wilt in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 125, p. 775-778.
- NAGATA, M. & YAMASHITA, I. 1992. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **J. Japan Soc. Food Sci. Technol. (Nippon Shokurho Gakkaishi)**, n. 39, v. 10, p. 925-928.
- NAGUIB, A. E. M.; EL-BAZ, F. K.; SALAMA, Z. A.; HANAA, H. A. E. B.; ALI, H. F.; GAAFAR, A. A. Enhancement of phenolics, flavonoids and glucosinolates of

- Broccoli (*Brassica oleracea*, var. *Italica*) as antioxidants in response to organic and bio-organic fertilizers. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**. *In press*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2012.03.001>. Acessado em: 21 mai. 2012.
- NATH, A.; BAGCHI, B.; MISRA, L. K.; DEKA, B. C. 2011. Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1510-1514.
- NAVABPOUR, S.; MORRIS, K.; ALLEN, R. HARRISON, E. S. A. H.-M. & Buchanan-Wollaston V. 2003. Expression of senescence-enhanced genes in response to oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 2285–2292, 2003.
- PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V.T. 2000. Biotechnological potential of agro-industrial residues: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 69-80.
- PICCHI, V.; MIGLIORI, C.; SCALZO, R. L.; CAMPANELLI, G.; FERRARI, V.; CESARE, L. F. D. 2012. Phytochemical content in organic and conventionally grown Italian cauliflower. **Food Chemistry**, v. 130, p. 501-509.
- POPOVA M.; BANKOVA V.; BUTOYSKA D.; PETKOV V.; NIKOLOVA-DAMYANOVA B.; SABATINI A.G.; MARCAZZAN G.L., BOGDANOV S. 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochemical Analysis**, v. 15, p. 235–240.
- PY, C., LACOEUILHE, J.J., TEISSON, C. (1984) **L'ananas: sa culture, ses produits**. Paris: Maisonneuve, 563p.
- REIS, K. C.; ELIAS, H. H. S.; LIMA, L. C. O.; SILVA, J. D. S.; PEREIRA, J. 2006. Japanese cucumber (*Cucumis sativus* L.) submitted of the treatment with cassava starch film. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 3, p. 487-493.
- REN, H.; ENDO, H.; HAYASHI, T. 2001. The superiority of organically cultivated vegetables to general ones regarding antimutagenic activities. **Mutation Research**, v. 496, p. 83-88.



- RICHARDSON, S. D.; THRUSTON JR., A. D.; CAUGHRAN, T. V.; CHEN, P. H.; COLLETTE, T. W.; SCHENCK, K. M.; LYKINS, JR. B. W.; RAV-ACHA, C.; GLEZER, V. 2000. Identification of new drinking water disinfection byproducts from ozone, chlorine dioxide, chloramine, and chlorine. **Water, Air, and Soil Pollution**, v.123, p. 95-102.
- ROSSETO, M. R. M.; SHIGA, T. M.; VIANELLO, F.; LIMA, G. P. P. 2012. Analysis of total glucosinolates and chromatographically purified benzylglucosinolate in organic and conventional vegetables. **LWT - Food Science and Technology**. *In press*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.022>
- SANTIAGO-SILVA, P.; LABANCA, R. A.; GLORIA, M. B. A. 2011. Functional potential of tropical fruits with respect to free bioactive amines. **Food Research International**, v. 44, p. 1264-1268.
- SILVA, F. A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. 2009. Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: **American Society of Agricultural and Biological Engineers**.
- SINGLETON V.L.; ROSSI J.A.Jr. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**,16:144-158.
- SOUSA, A.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. 2008. Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives "alcaparras". **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n.4, p.739-745.
- STARZYŃSKA, A.; LEJA, M.; MARECZEK, A., 2003. Physiological changes in the antioxidant system of broccoli flower buds senescing during short-term storage, related to temperature and packaging. **Plant Science**, v.165, p. 1387-1395.
- TERADA, M., WATANABE, Y.; KUNITOMA, M.; HAYASHI, E. 1978. Differential rapid analysis of ascorbic acid and ascorbic acid 2-sulfate by dinitrophenylhydrazine method. **Annals of Biochemistry**, v. 84, p. 604-608.

- VALLVERDÚ-QUERALT, A.; MEDINA-REMÓN, A.; CASALS-RIBES, I.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. 2012. Is there any difference between the phenolic content of organic and conventional tomato juices? **Food Chemistry**, v. 130, p. 222-227.
- WINTER, C. F. & DAVIS, S. F. 2006. Organic foods. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 9, p. 117-124.
- WOESE, K.; LANGE, D.; BOESS, C.; BOGL, K. W. 1997. A comparison of organically and conventionally grown foods: Results of a review of the relevant literature. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.74, p. 281-293.
- YOUNG, J. F.; NIELSEN, S. E.; HARALDSDOTTIR, J.; DANESHVAR, B.; LAURIDSEN, S. T.; KNUTHSEN, P.; CROZIER, A.; SANDSTROM, B.; DRAGSTED, L. O. 1999. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p.87-94.



### CAPÍTULO III<sup>1</sup>

**Atividade de enzimas oxidativas na qualidade de diferentes variedades de  
*radicchio***

**Activity of oxidative enzymes in the quality of different varieties of *radicchio***

<sup>1</sup>O artigo está redigido de acordo com as normas para publicação na Revista Ciência Rural.

1 **Atividade de enzimas oxidativas na qualidade de diferentes variedades de**  
2 ***radicchio***

3  
4 Activity of oxidative enzymes in the quality of different varieties of *radicchio*

5  
6 **Resumo**

7 As diferentes cultivares hortícola normalmente apresentam composições bioquímicas  
8 diferentes esta variabilidade no perfil da qualidade como uma função do genótipo tem  
9 representado uma das estratégias para a produção de produtos hortícolas com as  
10 características das mais altas qualidades a fim de atender as necessidades específicas  
11 expressas pelos consumidores. O *radicchio Cichorium intybus* L., var. *rubifolium* é  
12 amplamente consumido na Europa e o conhecimento das características de cada cultivar  
13 é imprescindível para o conhecimento dos processos fisiológicos e bioquímicos  
14 possibilitando melhores condições de manuseio, acondicionamento e armazenamento  
15 que são essências para o sucesso do controle da qualidade dos produtos hortícolas antes  
16 da chegada ao consumidor. O *radicchi* foram obtidos através de produtores locais da  
17 Itália. Os *radicchi* foram lavados e cortados em pedaços pequenos e congeladas em  
18 nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -80°C. Para em seguida serem realizadas  
19 as análises enzimáticas de polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) e proteínas  
20 solúveis totais. A análise estatística foi em delineamento inteiramente casualizado  
21 (DIC). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias  
22 foram comparadas pelo teste Scott-Knott ( $p < 0.05$ ), pelo programa Assistat versão 7.6  
23 Beta. Nesse estudo constata-se que para a atividade de peroxidase verifica-se que  
24 variedades T e T 506 Chioggia e a variedade Chioggia "706" foram as apresentaram  
25 maior atividades enzimática. A variedade Castellano Lucrezia apresentou maior  
26 atividade da polifenoloxidase. Para o teor de proteínas solúveis totais a 5070 F1  
27 Chioggia foi a variedade que apresentou maior teor de proteínas solúveis totais.

28 **Palavra-chave:** *Cichorium intybus* L., var. *rubifolium*, polifenoloxidase (PPO),  
29 peroxidase (POD), proteínas solúveis totais.

30

31

## 32 **Abstract**

33 The different horticultural cultivars usually have different biochemical compositions of  
34 this variability in quality profile as a function of genotype has represented one of the  
35 strategies for the production of vegetables with the characteristics of the highest quality  
36 to meet the specific needs expressed by consumers. The Radicchi *Cichorium intybus* L.,  
37 var. *rubifolium* is widely consumed in Europe and knowledge of the characteristics of  
38 each cultivar is essential for the understanding of physiological and biochemical  
39 processes enabling better handling, packaging and storage are essential to the success of  
40 quality control of vegetables to the consumer prior to arrival . The radicchios were  
41 obtained from local producers in Italy. The radicchios were washed and cut into small  
42 pieces and frozen in liquid nitrogen and stored in a freezer at -80 ° C. For subsequent  
43 analyzes performed enzyme polyphenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) and total  
44 soluble proteins. The statistical analysis was a completely randomized design (CRD).  
45 The data were submitted to ANOVA and means were compared by Scott-Knott ( $p$   
46  $<0.05$ ), the program Assistat version 7.6 Beta. In this study it appears that for the  
47 peroxidase activity it appears that T and T 506 varieties and variety Chioggia Chioggia  
48 "706" were showed higher enzyme activities. The variety Castellano Lucrezia showed  
49 the highest activity of polyphenyloxidase. For the total soluble protein content the 5070  
50 F1 Chioggia was the variety with the highest content of total soluble proteins.

51 **Keywords:** *Cichorium intybus* L., var. *rubifolium*, polyphenoloxidase, peroxidase and  
52 total soluble proteins

## 53 **Introdução**

54 O *radicchio* (*Cichorium intybus* L., var. *rubifolium*), um vegetal da família  
55 *Asteraceae*, se caracteriza por formar naturalmente em inícios de outono uma cabeça de  
56 entre 50 a 80 folhas. Quando maduro as folhas apresentam uma intensa cor púrpura em  
57 suas lamínas e com nervuras brancas. Algumas variedades possuem, internamente, uma  
58 cabeça fechada assemelhando-se a um repolho (NICOLETTO, 2010). O *radicchio* tem  
59 sido pesquisado por muitos anos como fonte nutricionalmente relevante quanto a  
60 quantidade de fotoquímicos e seus potenciais benefícios a saúde tem sido relacionado  
61 aos compostos fenólicos (NICOLETTO; PINIPI, 2010).

62 As qualidades nutricionais de frutas e hortaliças são medidas normalmente por  
63 parâmetros físico e químico. E outro parâmetro muito utilizado atualmente e a  
64 determinação do nível de stress oxidativo da planta.

65 A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária  
66 para as atividades essenciais das células. Entretanto, o metabolismo do oxigênio nas  
67 células vivas também leva à produção de radicais livres. Oxidantes são compostos  
68 produzidos pelo metabolismo normal dos organismos e, se não controlados, podem  
69 provocar danos extensivos (ROESLER et al., 2007).

70 As reações oxidativas acontecem na presença de espécies reativas de oxigênio  
71 (ROS) que são substâncias que apresentam elevada reatividade como: radicais hidroxila  
72 (OH<sup>-</sup>), peroxila (RO<sub>2</sub><sup>-</sup>), alcooxila (RO<sup>-</sup>), hidroperoxila (HO<sub>2</sub><sup>-</sup>), íon superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>),  
73 peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>-</sup>), ácido hipocloroso (HOCl<sup>-</sup>), ozona (O<sub>3</sub><sup>-</sup>) e as formas  
74 triplete (3O<sub>2</sub><sup>-</sup>) e singleto (1O<sub>2</sub><sup>-</sup>) do oxigênio (Buchanam et al., 2000). A ROS é  
75 produzida pelo metabolismo normal do organismo e entre elas existem a superóxido  
76 (O<sub>2</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e radicais hidroxilas (-OH) (DEL RÍO et al.,  
77 2006; FOYER ;NOCTOR, 2005).

78 Para retardar ou inibir essas reações oxidativas a planta induz a atividade de  
79 enzimas que contribui para a formação de substâncias antioxidantes.

80 A definição mais aceita para antioxidantes é que seriam substâncias as quais,  
81 mesmo presentes em baixas concentrações em relação ao substrato oxidante, poderiam  
82 atrasar ou inibir as taxas de oxidação (ROCHA et al., 2007).

83 Os antioxidantes, quando presentes em níveis altos em comparação a um  
84 composto oxidável, atrasam significativamente ou inibem a oxidação destes compostos.  
85 Sob condições normais, os antioxidantes e as ROS (substâncias reativas oxigenadas)  
86 estão em equilíbrio, evitando assim os danos oxidativos às células. Sob certas  
87 condições, entretanto, esse equilíbrio é perturbado, ocorrendo o estresse oxidativo  
88 (O'NEIL; THURNHAM, 1998). As enzimas que estão ligadas ao estresse oxidativo,  
89 são consideradas como enzimas antioxidantes, como a polifenoloxidase e a peroxidase  
90 (KUMAR; MALHOTRA, 2008).

91 A peroxidase atua na remoção de átomos de hidrogênios dos alcoóis,  
92 combinando-os com o peróxido de hidrogênio para formas moléculas de água. Já as

93 polifenoloxidasas, promovem a oxidação enzimática de compostos fenólicos  
94 produzindo, primeiramente, quinona que depois é convertida em melanina, formando  
95 pigmentos escuros e insolúveis (MENOLLI et al., 2008).

96 As polifenoloxidasas promovem a oxidação enzimática de compostos fenólicos  
97 produzindo, primeiramente, quinona que depois se condensa em pigmentos escuros e  
98 insolúveis (MENOLLI et al., 2008).

99 A variabilidade no perfil da qualidade como uma função do genótipo tem  
100 certamente representado uma das estratégias para a produção de produtos hortícolas  
101 com as características das mais altas qualidades a fim de atender as necessidades  
102 específicas expressas pelos consumidores. Para isso se faz necessário o conhecimento  
103 dos processos que determinam a eficácia dos compostos bioativos através da  
104 identificação química para verificar a estabilidade em vários estágios de preservação  
105 (FINLEY, 2005; NICOLETTO, 2010). Um dos estudos que podem ser realizados é a  
106 determinação da atividade enzimática em frutas e hortaliças. A atividade de enzimas  
107 oxidativas, como as peroxidases e polifenoloxidasas, tem sido bastante estudada em  
108 plantas (NOJOSA et al, 2003).

109 Assim, o conhecimento das características de cada cultivar assim como de seus  
110 estágios de maturação são imprescindíveis para o conhecimento dos processos  
111 fisiológicos e bioquímicos possibilitando melhores condições de manuseio,  
112 acondicionamento e armazenamento que são essências para o sucesso do controle da  
113 qualidade dos produtos hortícolas antes da chegada ao consumidor (SILVA et al.,  
114 2004).

115 Sendo assim, o objetivo proposto nesse trabalho foi verificar o efeito da atividade  
116 enzimática na qualidade de diferentes variedades de *radicchio* e quantificar o teor de  
117 proteína solúvel total nessas variedades.

## 118 **Material e métodos**

119 Trinta e duas variedades de *radicchio* (*Cichorium Intybus* L., grupo *Rubifolium*)  
120 (Perso, Sirio, Lusia Precocissimo, Lusia Precoce, Bianco Precocissimo, Lusia Medio,  
121 VR Cologna Medio, Zeus, TVG1, CF Precoce, Chioggia "Zeus", TVP - APUS  
122 "Variegato" T e T, TV. P. APUS "Normale", Chioggia "Leo", Chioggia "4050",  
123 Castellano Lucrezia, Lusia Adige Tardivo, Castellano Tardivo, Castellano Medio,

124 Cologna Tardivo, T e T 506 Chioggia, Chioggia Altar, TVP Baldo, TVP "Nando",  
125 Chioggia "606", Tup "Bottiglione", Chioggia "706", Verona "Arcolano", T e T Marina,  
126 Castelfranco Ammiraglio, 5070 F1 Chioggia) foram adquiridas dos produtores locais da  
127 cidade de Padova (latitude 45°27'N e longitude 12°27'E e 12 m de altitude), região de  
128 Veneto, Itália. Para assegurar a comparação, foram adquiridas plantas com a mesma  
129 idade fisiológica para cada variedade estudada.

130 Os *radicchi* foram colhidos nas primeiras horas da manhã, selecionados e  
131 transportados, imediatamente, ao Laboratório de Química Biológica, UNIPD. Os  
132 vegetais foram lavados em água corrente e detergente neutro, para retirada do calor de  
133 campo e grandes impurezas. Em seguida, foram colocados sob papel absorvente para a  
134 retirada de excesso de água. Durante todo o processo de lavagem e secagem a  
135 temperatura ambiente foi mantida a 15°C. Após a secagem, os *radicchi* foram cortados,  
136 congelados em nitrogênio líquido e armazenados em ultra-freezer a  $-80 \pm 1^\circ\text{C}$ .  
137 Posteriormente, para a realização das análises, as amostras foram pulverizadas em  
138 nitrogênio líquido e acondicionadas em tubos coberto com papel-alumínio e mantidas  
139 congeladas em ultra-freezer a  $-80 \pm 1^\circ\text{C}$ .

140 O delineamento experimental foi inteiramente casualizados, sendo usadas 32  
141 variedades, com três repetições. Foram realizadas as análises de proteínas solúveis totais  
142 e as atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PFO). Os dados  
143 obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias foram  
144 comparadas pelo teste Scott-Knott ( $p < 0.05$ ), pelo programa Assistat versão 7.6 Beta  
145 (Silva, 2009).

146

147 **Proteínas solúveis totais:** o teor das proteínas solúveis totais foi determinado de  
148 acordo com o método descrito por Bradford (1976), realizando-se a leitura da  
149 absorvância em espectrofotômetro a 595 nm. Os valores obtidos na leitura foram  
150 substituídos na equação da curva de eficiência (caseína como padrão) e expressos em  
151  $\text{mg proteína g}^{-1}$  massa fresca.

152 **Determinação da atividade peroxidase (POD):** as análises da atividade da peroxidase  
153 (EC1.11.1.7) foram realizadas de acordo com método descrito por Lima al. (1999).  
154 Foram utilizados, para determinação da atividade de peróxido de hidrogênio,



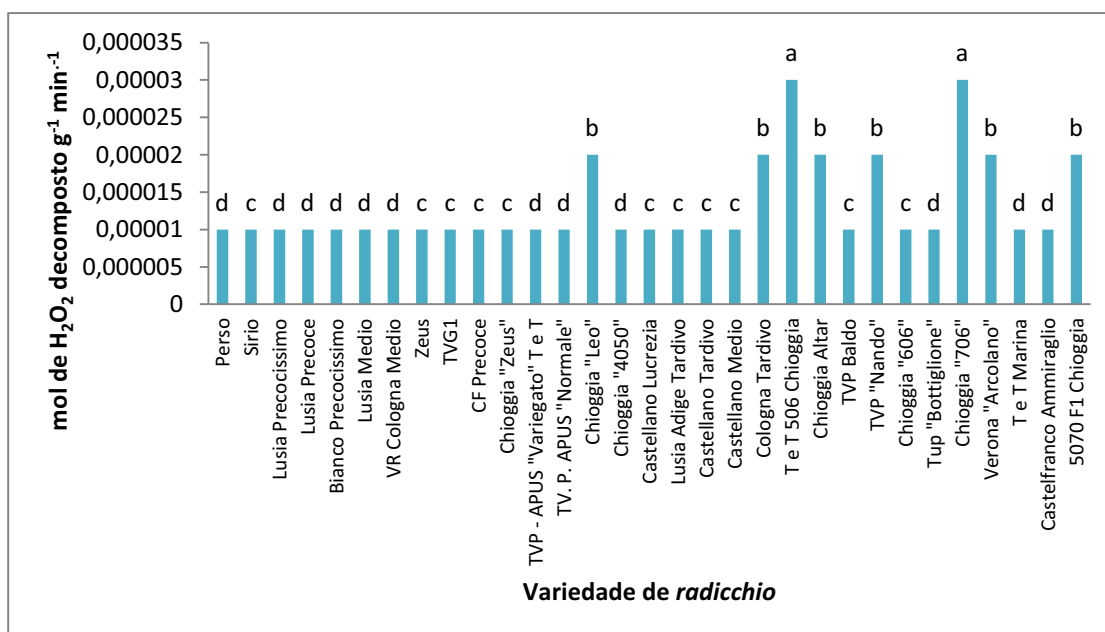
155 aminoantipirina e fenol, sendo os resultados expressos em (mol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> decomposto g<sup>-1</sup>  
 156 min<sup>-1</sup>).

157 **Determinação da atividade polifenoloxidase (PPO):** a atividade da polifenoloxidase  
 158 foi determinada pelo método de Kar & Mishra (1976). A leitura foi realizada em  
 159 absorvância no espectrofotômetro a 395 nm. A atividade enzimática expressa em µmol  
 160 catecol transformado min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> massa fresca.

## 161 Resultados e Discussão

162 Para a atividade de peroxidase verifica-se efeito significativo pelo teste Scott-  
 163 Knott ( $p < 0.05$ ) entre as variedades, nas quais T e T 506 Chioggia e a variedade  
 164 Chioggia "706" apresentaram maior atividades, seguidas das variedades Chioggia  
 165 "4050", Cologna Tardivo, Chioggia Altar, TVP "Nando", Verona "Arcolano", 5070 F1  
 166 Chioggia (Figura 1).

167 As variedades Perso, Lusía Precocissimo, Lusía Precoce, Bianco Precocissimo,  
 168 Lusía Medio, VR Cologna Medio, TVP - APUS "Variegato" T e T, TV. P. APUS  
 169 "Normale", Chioggia "4050", Tup "Bottiglione", T e T Marina, Castel Franco  
 170 Ammiraglio, não apresentaram efeito significativo entre si pelo teste Scott-Knott ( $p <$   
 171  $0.05$ ), assim como, mostraram as menores atividades da peroxidase em relação as  
 172 demais variedades já citadas no anteriormente (Figura 1).



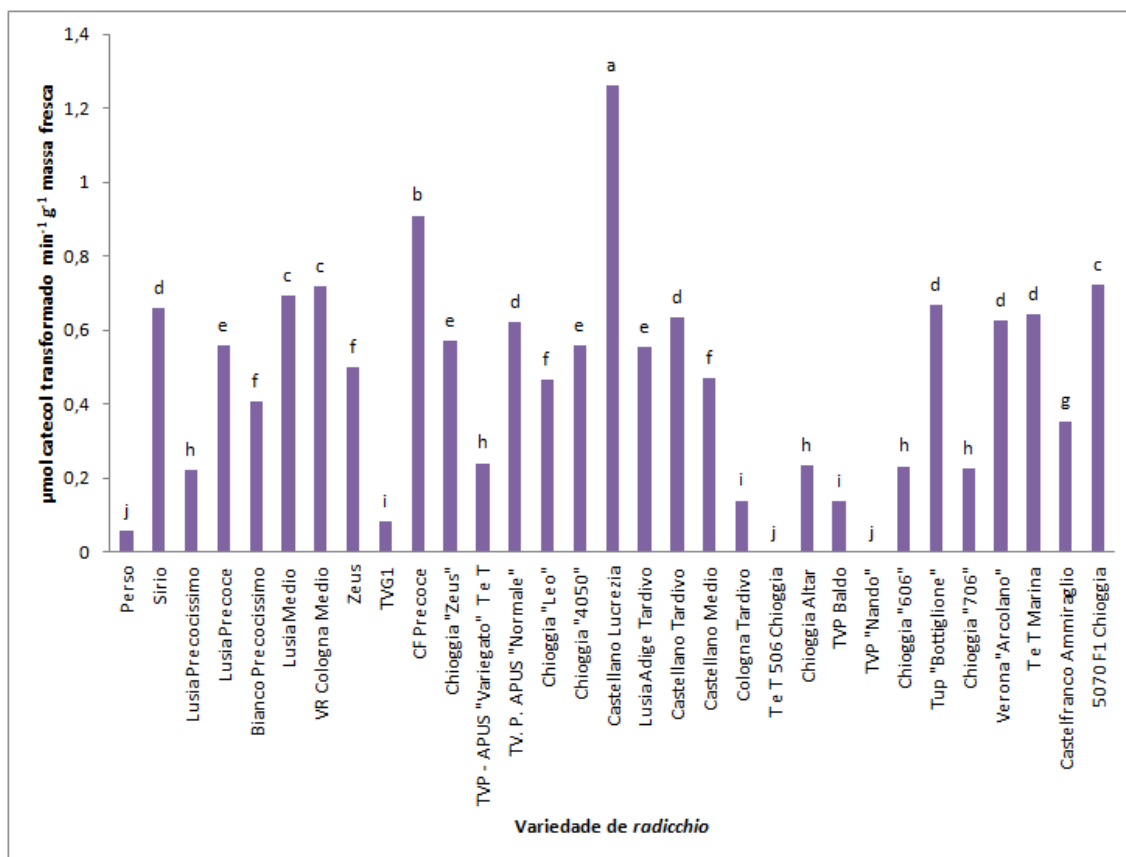
173

174 **Figura 1.** Atividade da peroxidase ( $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  decomposto  $\text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$ ) em diversas  
175 variedades de radicchio.

176 Para a atividade da polifenoloxidase, observa-se efeito significativo pelo teste  
177 Scott-Knott ( $p < 0.05$ ), na qual a variedade Castellano Lucrezia apresentou a maior  
178 atividade da polifenoloxidase, em relação as variedades estudadas, seguida da variedade  
179 CF Precoce (Figura 2).

180 Segundo Pourcel et al. (2006), a PPO é uma enzima envolvida na oxidação de  
181 fenóis, tanto em processos fisiológicos associados com o amadurecimento e, em  
182 qualquer forma de manipulação de frutos e vegetais, que envolve dano no tecido. De  
183 acordo com os resultados, provavelmente a variedade Castellano Lucrezia, pode ser rica  
184 em compostos fenólicos, substrato para a enzima analisada.

185 Os menores valores para a atividade da polifenoloxidase foram encontrados nas  
186 variedades Perso, T e T 506 Chioggia e TVP Nando (Figura 2), que não apresentaram  
187 diferença significativa entre si, pelo teste Scott-Knott ( $p < 0.05$ ).

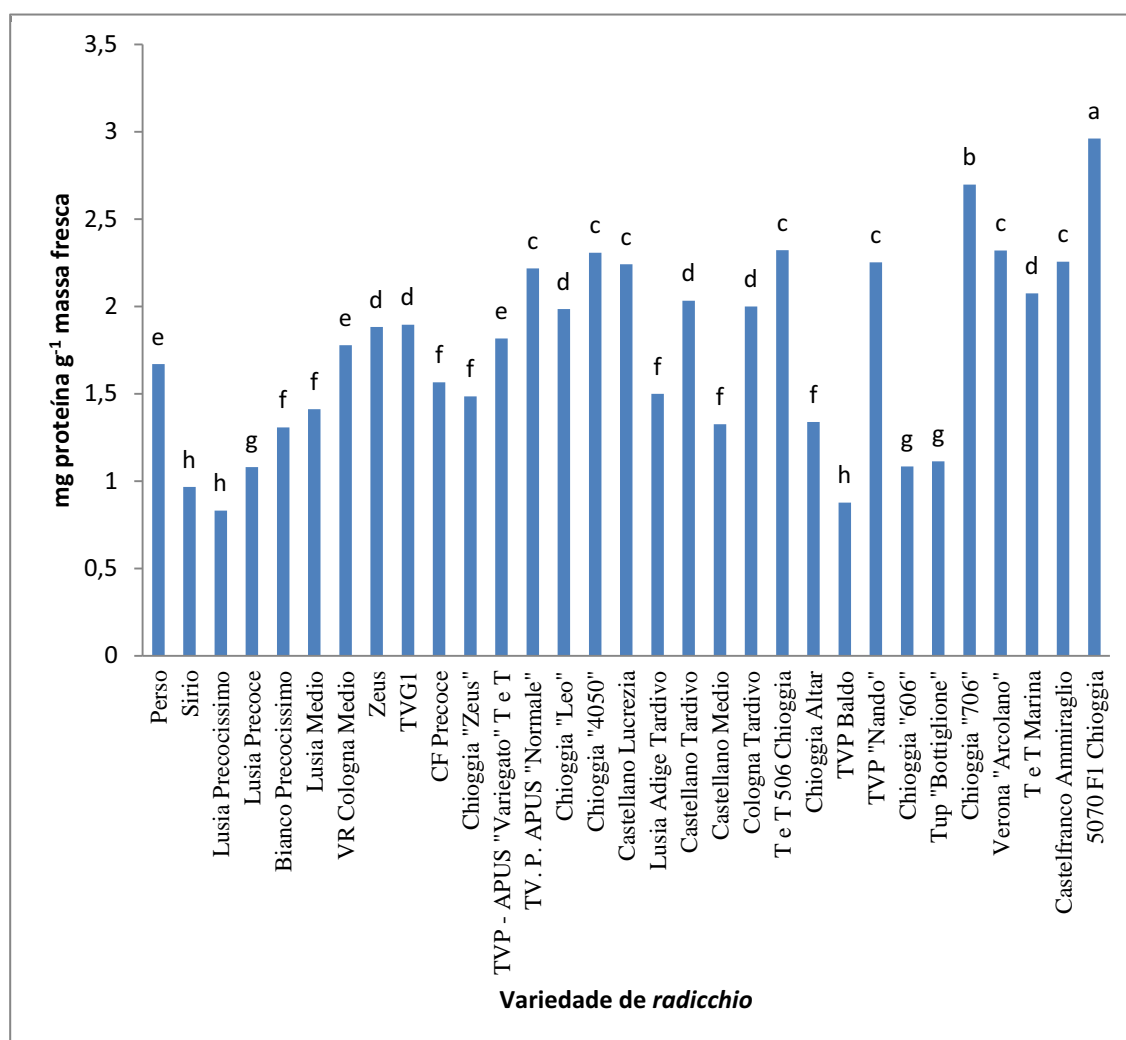


188

189 **Figura 2.** Atividade da polifenoloxidase ( $\mu\text{mol catecol transformado min}^{-1} \text{g}^{-1}$  massa  
190 fresca) em diversas variedades de *radicchio*.

191 Para o teor de proteínas solúveis totais, observa-se efeito significativo pelo teste  
192 Scott-Knott ( $p < 0.05$ ) entre as variedades, sendo a 5070 F1 Chioggia a variedade que  
193 apresentou maior teor de proteínas solúveis totais, seguida da variedade Chioggia "706"  
194 (Figura 3). Os menores teores de proteínas solúveis totais foram observados nas  
195 variedades Sirio, Luzia Precocissimo e TVP Baldo (Figura 3), sendo que essas  
196 variedades não apresentaram efeito significativo entre si, pelo teste Scott-Knott ( $p <$   
197  $0.05$ ).

198



199

200 **Figura 3.** Proteínas solúveis totais (mg proteína g<sup>-1</sup> massa fresca) em diversas  
201 variedades de *radicchio*.

202 Para Mousavizadeh et al. (2011), vários tipos de estresses podem provocar os  
203 escurecimentos enzimáticos em tecidos de vegetais, o que promove mudanças de  
204 qualidade indesejáveis levando a descoloração, *off-flavors* e danos nutricionais. Esta  
205 reação resulta principalmente a partir da ação de enzimas tais como as polifenoloxidasas  
206 e peroxidases. Por isso, a necessidade do monitoramento da atividade dessas enzimas  
207 em vegetais pode ser interessante. Danos no processo de colheita (por exemplo, cortar,  
208 lavar) e manuseio também aumentam a atividade enzimática. Em alface, a injúria  
209 induziu a síntese de enzimas na via metabólica responsável para aumentar a produção  
210 de compostos fenólicos e o escurecimento, como as peroxidases e polifenoloxidasas  
211 (RICO et al., 2007).

212 Terefe et al. (2011), verificou em pesquisa com morangos que a oxidase provida  
213 pelas enzimas oxidativas como as polifenoloxidasas e peroxidases causaram a  
214 degradação das antocianinas e outros polifenóis, levando à descoloração e perda da  
215 atividade antioxidante, diminuindo a a qualidade pós-colheita desses frutos. Caso isso  
216 ocorresse nas variedades com coloração avermelhada, seria uma indicação de danos e  
217 poderia ocorrer rejeição do produto pelo consumidor.

## 218 **Conclusão**

219 As maiores atividades de peroxidase ocorreram nas variedades T e T 506 Chioggia e a  
220 variedade Chioggia "706" e na variedade Castellano Lucrezia, ocorreu a maior  
221 atividade da polifenoloxidade. 5070 F1 Chioggia mostrou os maiores teores de  
222 proteínas solúveis.

## 223 **Agradecimentos**

224 A CAPES pela concessão da bolsa. Aos produtores da região do Veneto, Padova  
225 pela doação dos vegetais.

## 226 **Referências Bibliográficas**

227  
228 BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram  
229 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". **Analytical**  
230 **Biochemistry**, v.72, p.248- 254, 1976.  
231 del RÍO, L. A.,et al. Update on reactive oxygen and nitrogen species in peroxisomes:  
232 production, scavenging, and role in cell signaling. **Plant Physiology**, v. 141, p. 330-  
233 335, 2006.

- 234 DOĞAN, S.; TURAN, P.; DOĞAN, M.; ARSLAN, O.; ALKAN, M. Variations of  
235 peroxidase activity among *Salvia* species. **Journal of Food Engineering**, v. 79, p. 375-  
236 382, 2007.
- 237 FINLEY, J. W. Proposed criteria for assessing the efficacy of cancer reduction by plant  
238 foods enriched in carotenoids, glucosinolates, polyphenols na seleno compounds. **Annal**  
239 **of Botany**, v. 95, p. 1075-1096, 2005.
- 240 FOYER, C. H. & NOCTOR, G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a  
241 metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant**  
242 **Cell**, v. 17, p. 1866-1875, 2005.
- 243 KAR, M. & MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during  
244 rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, p. 315-319, 1976.
- 245 KUMAR, S & MALHOTRA, S. P. Partial purification of superoxide dismutase and  
246 peroxidase from ber (*Zizyphus mauritiana* Lamk.) fruit using anion exchange  
247 chromatography. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 14, n. 3, p. 167-172.
- 248 LIMA, G. P. P; BRASIL, O. G.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividade da  
249 peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia**  
250 **Agrícola**, v. 56, n. 1, p. 21-26, 1999.
- 251 NICOLETTO, C. Caratterizzazione qualitative di alcuni ortaggi tipici del Veneto. Tesi  
252 (Dottorato in Agronomia Ambientale) – Scuolo di Dottorato in Scienze delle  
253 Produzioni, Università Degli Studi di Padova, Padova, 2010. Available at:  
254 [http://paduaresearch.cab.unipd.it/2357/1/Tesi\\_dottorato\\_-\\_Carlo\\_-Nicoletto.pdf](http://paduaresearch.cab.unipd.it/2357/1/Tesi_dottorato_-_Carlo_-Nicoletto.pdf), 2011.
- 255 NICOLETTO, C. & PIMPINI, F. Influence of the forcing process on some qualitative  
256 aspects in radicchio “Rosso di Treviso Tardivo”. 2. Antioxidant capacity, phenols and  
257 ascorbic acid. **Rivista di Agronomia**, v. 5, p. 43-52, 2010.
- 258 NOJOSA, G. B. A., et al. Componentes fenólicos e enzimas oxidativas em clones de  
259 *Theobroma cacao* resistentes e suscetíveis a *Crinipellis pernicioso*. **Fitopatologia**  
260 **Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 148-154, 2003.
- 261 O’NEIL, M. E.; THURNHAM, D. J. Intestinal absorption of beta-carotene, lycopene and  
262 lutein in men and women following a standard meal: response curves in the  
263 triacylglycerol-rich lipoprotein fraction. **British Journal of Nutrition**, S. 1, v. 79, n. 2,  
264 p. 149-159, 1998.

- 265 ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase  
266 activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**,  
267 v. 111, p. 235-241, 2007.
- 268 RICO, D.; MARTÍN-DIANA, A. B.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending  
269 and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food**  
270 **Science & Technology**, v. 18, p. 373-386, 2007.
- 271 ROCHA, F. D.; PEREIRA, R. C.; KAPLAN, M. A. C.; TEIXEIRA, V. L. Produtos  
272 naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. **Revista Brasileira de**  
273 **Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 631-639, 2007.
- 274 ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C.  
275 A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência**  
276 **Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.1, p. 53-60, 2007.
- 277 SILVA, P. M. et al. **Produção integrada de frutas** – PIF. Fortaleza: Instituto Frutal,  
278 2004. 105p.
- 279 SILVA, A. V. C., et al. Packing and refrigeration for atemoya preservation. **Ciência e**  
280 **Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 300-304, 2009.
- 281 TEREFE, N. S.; YANG, Y. H.; KNOERZER, K.; BUCKOW, R.; VERSTEEG, C. High  
282 pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in  
283 strawberry puree. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 52-  
284 60, 2010.

## Considerações Finais

Verificou-se que os tratamentos de sanitização foram eficientes na manutenção da qualidade fitossanitária de brócolis orgânicos e convencionais, sendo os tratamentos com água ozonizada por 5 e 10 minutos os mais eficientes na redução da carga microbiana e no controle do crescimento das colônias durante o período de armazenamento. Os tratamentos de sanitização e os modos de cultivo influenciaram somente a acidez e o teor de sólidos solúveis. Não houve influência do modo de cultivo nos teores de Cu, Zn e Mn. O uso do ozônio não alterou as qualidades físico-químicas dos brócolis, independente do modo de cultivo, o que pode ser promissor, como alternativa para uso como sanitizante.

Antes da submissão dos brócolis orgânicos e convencionais aos tratamentos de sanitização houve diferença significativa no teor de fenóis, sendo que os brócolis convencionais apresentaram os maiores valores, sendo que após a sanitização e no primeiro dia de armazenamento, os brócolis orgânicos apresentaram os maiores valores. Os teores de flavonóides, em relação ao modo de cultivo, foram maiores em brócolis orgânicos exceto naqueles que receberam o tratamento com água ozonizada por dez minutos. Os brócolis convencionais apresentaram maiores teores de vitamina C do que os orgânicos, este teor foi influenciado por todos os tratamentos, tanto no sistema orgânico quanto no convencional, exceto nos tratamentos com ozônio por 5 e 10 minutos em brócolis orgânicos. Os teores de clorofila *a* não foram influenciados pela sanitização nos brócolis cultivados em sistema orgânico; no caso dos brócolis cultivados em sistema convencional, aparentemente, as clorofilas foram menos degradadas quando as inflorescências foram sanitizadas com ozônio independente do tempo. O maior teor de putrescina foi encontrado em brócolis convencionais e de espermidina e espermina em brócolis orgânicos. A capacidade antioxidante, nos brócolis chegados do campo,

foram maiores no modo de cultivo convencional do que no orgânico, após a submissão aos tratamentos os brócolis orgânicos apresentaram maiores valores para a capacidade antioxidante durante o armazenamento.

Nas diferentes variedades de *radicchio* estudadas, as variedades Chioggia “706” e T e T 506 Chioggia apresentaram as maiores atividades para a peroxidase. Na variedade Castellano Lucrezia obteve-se a maior atividade para a polifenoloxidase, seguida pela variedade CF Precoce. E a variedade 5070F1 Chioggia seguida pela Chioggia ‘706’ apresentaram os maiores teores de proteínas solúveis totais.

### Referências Bibliográficas

- AMANTE, E. R.; MELLO, J. C.; DIETRICH, R.; MEINERT, E. M.; TEIXEIRA, E. Efeito do cultivo orgânico e convencional sobre a vida-de-prateleira de alface americana (*Lactuca sativa* L.) minimamente processada. **Ciência Tecnol. Aliment.**, v. 23, n. 3, p. 418-426, 2003.
- AIMLAR-OR, S.; KAEWSUKSAENG, S.; SHIGYO, M.; YAMAUCHI, N. Impact of UV-B irradiation on chlorophyll degradation and chlorophyll-degrading enzyme activities in stores broccoli (*Brassica oleracea* L. Italica Group) florets. **Food Chemistry**, v. 120, p. 645-652, 2010.
- ALOTHMAN, M.; KAUR, B.; FAZILAH, A.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 666–671, 2010.
- ALTUNKAYA, A.; BECKER, E. M.; GÖKMEN, V. SKIBSTED, L. H. Antioxidante activity of lettuce extract (*Lactuca sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 115, p. 163-168, 2009.
- ANSORENA, M. R.; GOÑI, M. G.; AGUËRO, M. V.; ROURA, S. I.; SCALA, K. C. Di. Application of the General Stability Index Method to assess the quality of butttter lettuce during postharvest storage using a multi-quality índices analysis. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 317-323, 2009.
- ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 501-506, 2010.



- ARAÚJO, F. M. M. C.; MACHADO, A. V.; CENA, V. S. Estudo do branqueamento e do uso de embalagens na conservação de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) minimamente processada. **Revista Verde**, v. 5, n. 1, p. 30-36, 2010. Disponível em: <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/389>. Acessado em: 13 jan. 2012.
- AROUCHA, E. M. M.; GOIS, V. A.; LEITE, R. H. L.; SANTOS, M. C. A.; SOUZA, M. S. Acidez em frutas e hortaliças. **Revista Verde**, v. 5, n. 2, p. 1-4, 2010. Disponível em: <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/296>. Acessado em: 24 nov. 2011.
- ARTÉS, F.; VALLEJO, F.; MARTÍNEZ, J. A. Quality of broccoli as influenced by film wrapping durin shipment. **European Food Research Technology**; v. 213, p. 480-483, 2001.
- AWAD, MA; DE JAGER, A; VAN WESTING, LM. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. **Scientia Horticulturae**, v.83, p.249-263, 2000.
- Bagni, N., and A. Tassoni. Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants. *Amino acids.*, v. 20, p. 301–317, 2001.
- BAUR, S.; KLAIBER, R.; HAMMES, W. P.; CARLE, R. Sensory and microbiological quality of shredded, packaged iceberg lettuce as affected by pre-washing procedures with chlorinated and ozonated water. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 5, p. 45-55, 2004.
- BELTRÁN, D.; SELMA, M. V.; MARÍN, A.; GIL, M. I. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5654-5663, 2005.
- BORA, K.; MIGUEL, O. G.; ANDRADE, C. A.; OLIVEIRA, A. O. T. de. Determinação da concentração de polifenóis e do potencial antioxidante das diferentes frações do extrato de folhas de *Dicksonia sellowiana*, (Presl.) Hook, Dickson Iaceae. **Visão Acadêmica**, v. 6, n.2, p. 6-16, 2005.
- BORGHINI, R. G. & TORRES, E. A. F. S. Alimentos orgânicos: qualidade nutritiva e segurança do alimento. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 13, n. 2, p. 64-75, 2006.

- BRACKMANN, A.; TREVISAN, J. N.; MARTINS, G. A. K.; FREITAS, S. T.; MELLO, A. M. Postharvest quality of 'Teresópolis gigante' cauliflower treated with ethylene, ethylene absorbent and 1-methylcyclopropene. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1444-1447, 2005.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248- 254, 1976.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.-The quantitative analysis of phenolic constituents. **Lebensm Wiss Technology**, Oxford, v.28, p.25-30, 1995.
- CHIATTONE, P. V.; TORRES, L. M.; ZAMBIAZI, R. C. Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. **Alimentação e Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 341-349, 2008.
- BUCHANAN, B. B. et al. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 2. ed. Rockville: American Society of Plant Biologists, 2000. 1367p.
- COLL, J. B. et al. **Fisiologia Vegetal**. 1. ed. Madrid: Ediciones Pirámide, 2001. 566p.
- COSTA, L.; VICENTE, A. R.; CIVELLO, P. M.; CHAVES, A. R.; MARTÍNEZ, G. A. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, p. 204–210, 2006.
- CRUZ, A. C. F.; SANTOSM R. P.; IAREMA, L.; FERNANDES, K. R. G.; KUKI, K. N.; ARAÚJO, R. F.; OTONI, W. C. Métodos comparativos na extração de pigmentos foliares de três híbridos de *Bixa orellana* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 777-779, 2007.
- del RÍO, L. A.,et al. Update on reactive oxygen and nitrogen species in peroxisomes: production, scavenging, and role in cell signaling. **Plant Physiology**, v. 141, p. 330-335, 2006.
- DOĞAN, S.; TURAN, P.; DOĞAN, M.; ARSLAN, O.; ALKAN, M. Variations of peroxidase activity among *Salvia* species. **Journal of Food Engineering**, v. 79, p. 375-382, 2007.
- INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Normas analíticas**: métodos físicos e químicos para análise de alimentos. 3ed. São Paulo: Instituto Adolf Lutz, 1985, 533 p.

- FERREIRA, S. M. R.; QUADROS, D. A.; KARKLE, E. N. L.; LIMA, J. J.; TULLIO, L. T.; FREITAS, R. J. S. Qualidade pós-colheita do tomate de mesa convencional e orgânico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 858-864, 2010.
- FIDLER, J. C.; NORTH, C. J. The respiration of apples in CA storage conditions. **Bulletin de l'Institut International fu Froid**. Annexe, v. 1, p. 93-100, 1966.
- FINLEY, J. W. Proposed criteria for assessing the efficacy of cancer reduction by plant foods enriched in carotenoids, glucosinolates, polyphenols na seleno compounds. **Annal of Botany**, v. 95, p. 1075-1096, 2005.
- FOYER, C. H. & NOCTOR, G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, v. 17, p. 1866-1875, 2005.
- FLORES, H.E.; GALSTON. A.W. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. **Plant Physiology**, v. 69, p.701-706, 1982.
- FONTANÉTTI, A.; CARVALHO, G. J. de; MORAIS, A. R. de; ALMEIDA, K. de; DUARTE, W. F. Adubação verde no controle de plantas invasoras nas culturas de alface americana e de repolho. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 5, p. 967-973, 2004.
- FOYER, C. H. & NOCTOR, G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, v. 17, p. 1866-1875, 2005.
- GRIZOTTO, R. K.; BERBARI, S. A. G.; MOURA, S. C. S. R. de; CLAUS, M. L. Estudo da vida-de-prateleira de fruta estruturada e desidratada obtida de polpa concentrada de mamão. **Ciência Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 3, p. 709-714, 2006.
- GUARATINI, T.; MEDEIROS, M. H. G., COLEPICOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 206-213, 2007.
- GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. *Lebesm. – Wiss. u.Techonol.*, v. 37, p. 453-460, 2004.
- HASPERUÉ, J. H.; CHAVES, A. R.; MARTÍNEZ, G. A. End of Day harvest delays postharvest senescence of broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v. 59, p. 64-70, 2011.
- HE, L.; BAN, Y.; INOUE, H.; MATSUDA, N.; LIU, J.; MORIGUCHI, T. Enhancement of spermidine content and antioxidant capacity in transgenic pear shoots

- overexpressing apple spermidina synthase in response to salinity and hyperosmosis. **Phytochemistry**, v. 69, p. 2133-2141, 2008.
- HENRIOD, R. E. Postharvest characteristics of navel oranges following high humidity and low temperature storage and transport. **Postharvest Biology and Technology**, v. 42, p. 57-64, 2006.
- HEREDIA, J. B. & CISNEROS-ZEVALLOS, L. The effect of exogenous ethylene and methyl jamonate on pal activity, phenolic profiles and antioxidant of carrots (*Daucus carota*) under different wounding intensities. **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, p. 242-249, 2009.
- HOEFKENS, C.; SIOEN, I.; BAERT, K.; MEULENAER, B. D.; HENSUW, S. D.; VANDEKINDEREN, I.; DEVLIEGHERE, F.; OPSOMER, A.; VERBEKE, W.; CAMP, J. V. Consuming organic versus conventional vegetables: the effect on nutrient and contaminant intakes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 3058-3066, 2010.
- HOIGNÉ, J.; BADER, H. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—II: Dissociating organic compounds. *Water Research*, v. 17, n. 2, p. 185–194, 1983.
- Hodges, D. M.; Wismer, W. V.; Forney, C. F. Antioxidant responses in postharvest leaves of two cultivars of spinach (*Spinacia oleracea* L.) differing in their senescence rates. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 126, p. 611–617, 2001.
- HOUNSOME, N.; HOUNSOME, B.; TOMOS, D. EDWARDS-JONES, G. Changes in antioxidant compounds in white cabbage during winter storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52, p. 173-179, 2009.
- IGARASHI, K. & KASHIWAGI, K. Characteristics of cellular polyamine transport in prokaryotes and eukaryotes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 506-512, 2010.
- ISTAT – Istituto Nazionale di Statistica. Tavola C10 - **Superficie (ettari) e produzione (quintali): finocchio, indivia, lattuga, radicchio o cicoria, prezzemolo. Dettaglio per regione**, 2010. Disponível em: [http://agri.istat.it/sag\\_is\\_pdwout/jsp/dawinci.jsp?q=plC100000010000012000&an=2010&ig=1&ct=258&id=15A|18A|28A](http://agri.istat.it/sag_is_pdwout/jsp/dawinci.jsp?q=plC100000010000012000&an=2010&ig=1&ct=258&id=15A|18A|28A), 2011.
- JADOSKI, C. J.; SANTOS, C. M.; RODRIGUES, J. D.; ONO, O. E. Ação de reguladores vegetais, controle ambiental e armazenamento sobre parâmetros de

- conservação do pimentão em pós-colheita. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 4, n. 2, p. 99-121, 2011.
- KLAIBER, R. G.; BAUR, S.; MAGEL, L.; HAMMES, W. P.; CARLE, R. Quality of shredded, packaged carrots as affected by different washing treatments. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 4, 2004.
- KALAC, P.; KRAUSOVÁ, P. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. **Food Chemistry**, v. 90, p. 219-230, 2005a.
- KALAC, P.; KRIZEK, M.; PELIKÁNOVÁ, M. L.; ONDREJ, V. Contents of polyamines in selected foods. **Food Chemistry**, v. 90, p. 561-564, 2005b.
- KAR, M. & MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, p. 315-319, 1976.
- KLAIBER, R. G.; BAUR, S.; MAGEL, L.; HAMMES, W. P.; CARLE, R. Quality of shredded, packaged carrots as affected by different washing treatments. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 4, 2004.
- KLUGE, R. AL; AZEVEDO, R. A. de; JOMORI, M. L. L.; EDAGI, F. K.; JACOMINO, A. P.; GAZIOLA, S. A.; AGUILA, J. S. del. Efeitos de tratamentos térmicos aplicados sobre frutas cítricas armazenadas sob refrigeração. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1388-1396, 2006.
- KOH, E.; WIMALASIRI, K. M. S.; CHASSY, A. W.; MITCHELL, A. E. Content of ascorbic acid, quercetina, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. **Journal of Food Composition and Analysis**, 22, p. 637-643, 2009.
- KUMAR, S & MALHOTRA, S. P. Partial purification of superoxide dismutase and peroxidase from ber (*Zizyphus mauritiana* Lamk.) fruit using anion exchange chromatography. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 14, n. 3, p. 167-172, 2008.
- KUMPULAINEN J. Nutritional and toxicological quality comparison between organic and conventionally grown foodstuffs. **Proceedings of the International Fertilizer Society**, v.472, p.1-20, 2001.
- Kunz, A.; Freire, R.S.; Rohwedder, J.J.R.; Gutierrez, J.P.R.; Durán, N., Design and assembly of an ozonation system to production and utilization of ozone in a bench scale. *Brazilian Patent PI 9802076-5* **1998**.

- LIDSTER, P.D.; FORSYTH, F.R.; LIGHTFOOT, H.J. Low oxygen and carbon dioxide atmospheres for storage of 'McIntosh' apples. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.60, p.299-301, 1980.
- LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agrícola**, v. 56, p. 21-26, 1999.
- LIMA, G. P. P.; LOPES, A.M.; PADILHA, P.M.; CHARDULLO, L.A.L.; ROCHA, S.A.; CORRÊA, L.C. **Constituintes químicos em vegetais**. In: Alimente-se bem: fundamentos, estratégias e realizações. Sesi, São Paulo; p. 127, 2006.
- LIMA, G. P. P.; PIZA, I. M. T.; HENRIQUE, A.; TAKAKI, M. Polyamines as salinity biochemical marker in callus of *Eucalyptus urograndis*. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 1, p. 43-48, 2003.
- LIMA, G. P. P.; VIANELLO, F. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 1-13, 2011.
- LIMA G.P.P.; DA SILVA J.T.; BARNHARD A.B.; PIROZZI D.C.Z.; FLEURI L.F.; VIANELLO F. 2012. Organic and conventional fertilization procedures on the nitrate, antioxidants and pesticide content in parts of vegetables. **Food Additives and Contaminants**. In Press. <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2012.695398>. Acessado em: 01 jun. 2012.
- LÜDKE, I. **Produção orgânica de alface americana fertirrigada com biofertilizantes em cultivo protegido**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade de Brasília. Brasília, 2009.
- MAGKOS, F.; ARVANITI, F.; ZAMPELAS, A. Putting the safety of organic food into perspective. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, p.211-221, 2003.
- MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A.; ALLENDE, A.; BENNETT, R. N.; FERRERES, F.; GIL, M. I. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. **Postharvest Biology and Technology**, v. 42, p. 86-97, 2006.
- MAZZA, G. et al. **Alimentos Funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado**. 1. ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, 2000. 457p.
- MELLO, J. C.; DIETRICH, R.; MEINERT, E. M.; TEIXEIRA, E.; AMANTE, E. R. Efeito do cultivo orgânico e convencional sobre a vida-de-prateleira de alface

- americana (*Lactuca sativa* L.) minimamente processada. *Ciência Tecnologia Alimentos*, v. 23, n. 3, p. 418-426, 2003.
- MELLO FILHO, A.C.; HOFFMAN, M.E.; MENEGHINI, R. Cell killing and DNA damage y hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochem J** ; 218: 273-5, 1983.
- MITCHELL, A. E.; HONG, Y.; KOH, E.; BARRETT, D. M.; BRYANT, D. E.; DENISON, R. F.; KAFFKA, S. Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonóides in tomatoes. **J. Agricultural Food Chemistry**, v. 55, p. 6154-6159, 2007.
- MONTALBA, R.; ARRIAGADA, C.; ALVEAR, M.; ZÚÑIGA, G. E. Effects of conventional and organic nitrogen fertilizers on soil microbial activity, mycorrhizal colonization, leaf antioxidant content, and *Fusarium* wilt in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 125, p. 775-778, 2010.
- MORAES, E. C. F. et al. **Inseticidas organoclorados**. Manual de toxicologia analítica. São Paulo: Roca, 1991. p. 98-99.
- MOREIRA, M. D. R.; ROURA, S. I.; DEL VALLE, C. E. Quality of Swiss chard produced by conventional and organic methods. **Lebensm.-Wiss.**, v. 36, p.135–141, 2003.
- MOURA, S. C. S. R. de; BERBARI, S. A.; GERMER, S. P. M.; ALMEIDA, M. E. M. de; FEFIM, D. de A. Determinação da vida-de-prateleira de maçã-passa por testes acelerados. **Ciência Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 1, p. 787-792, 2007.
- NAGATA, M. & YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **J. Japan Soc. Food Sci. Techol. (Nippon Shokurhim Kogyo Gakkaishi)**, n. 39, v. 10, p. 925-928, 1992.
- NAGUIB, A. E. M.; EL-BAZ, F. K.; SALAMA, Z. A.; HANAA, H. A. E. B.; ALI, H. F.; GAAFAR, A. A. Enhancement of phenolics, flavonoids and glucosinolates of Broccoli (*Brassica oleracea*, var. *Italica*) as antioxidants in response to organic and bio-organic fertilizers. **Journal of rhe Saudi Society of Agriculturas Sciences**. *In press*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2012.03.001>. Acessado em: 21 mai. 2012.
- NAJATI, M. B. H. & KHODAPARAST, M. H. H. Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. **Food Control**, v. 20, p. 27-30, 2009

- NATH, A.; BAGCHI, B.; MISRA, L. K.; DEKA, B. C. Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1510-1514, 2011.
- NASCIMENTO, L. C.; LIMA, L. C. O.; PICOLLI, R. H.; FIORINI, J. E.; DUARTE, S. M. S.; SILVA, J. M. S. F.; OLIVEIRA, N. M. S.; VEIGA, S. M. O. M. Ozônio e ultrassom: processos alternativos para o tratamento do café despulpado. *Ciência Tecnologia Alimentar*, v. 28, n. 2, p. 282-294, 2008.
- NASCIMENTO, H. M.; DELGADO, D. A.; BARBARIC, I. F. Avaliação da aplicação de agentes sanitizantes como controladores do crescimento microbiano na indústria alimentícia. **Revista Ceciliana**, v. 2, n. 1, p. 11-13, 2010.
- NAVABPOUR, S.; MORRIS, K.; ALLEN, R. HARRISON, E. S. A. H.-M. & Buchanan-Wollaston V. 2003. Expression of senescence-enhanced genes in response to oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 2285–2292, 2003.
- NEVES, R. C. F.; MORAES, P. M.; SALEH, M. A. D.; LOUREIRO, V. R.; BARROS, M. M.; PADILHA, C. C. F.; ALVESJORGE, S. M.; PADILHA, P. M. FAAS determination of metal nutrients in fish feed after ultrasound extraction. **Food Chemistry**, v. 113, p. 679-683, 2009.
- NEVES, R. C. F., MORAES, P. M., SILVA, F. A., LOUREIRO, V. R., SALEH, M. A. D., PADILHA, C. C. F., Barros, M. M., PADILHA, P. M. Determination of copper in fish feed by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry using slurry sampling. **Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety**, v. 2, p. 274-279, 2008.
- NICOLETTO, C. Caratterizzazione qualitative di alcuni ortaggi tipici del Veneto. Tesi (Dottorato in Agronomia Ambientale) – Scuolo di Dottorato in Scienze delle Produzioni, Università Degli Studi di Padova, Padova, 2010. Available at: [http://paduaresearch.cab.unipd.it/2357/1/Tesi\\_dottorato\\_-\\_Carlo\\_-Nicoletto.pdf](http://paduaresearch.cab.unipd.it/2357/1/Tesi_dottorato_-_Carlo_-Nicoletto.pdf), 2011.
- NICOLETTO, C. & PIMPINI, F. Influence of the forcing process on some qualitative aspects in radicchio “Rosso di Treviso Tardivo”. 2. Antioxidant capacity, phenols and ascorbic acid. **Rivista di Agronomia**, v. 5, p. 43-52, 2010.
- NOJOSA, G. B. A., et al. Componentes fenólicos e enzimas oxidativas em clones de



- Theobroma cacao* resistentes e suscetíveis a *Crinipellis pernicioso*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 148-154, 2003.
- NIKOLAIDOU, A. E.; PAVLATOU-VE, A. K.; KOSTOPOULOU, S. K.; MAMOLOS, A. P.; KALBURTJI, K. L. Litter quality and decomposition of *Vitis vinifera* L. residues under organic and conventional farming systems. **European Journal of Soil Biology**, v. 46, p. 208-217, 2010.
- OBANDO-ULLOA, J. M.; NICOLAI, B.; LAMMERTYN, J.; BUESO, M. C.; MONFORDE, A. J.; FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J. P. Aroma volatiles associated with the senescence of climacteric ou non-climateric melon fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 52; p. 146-155, 2009.
- OLIVEIRA, M. N. S. de; GUSMÃO, E.; LOPES, P. S. N.; SIMÕES, M. O. M.; RIBEIRO, L. M.; DIAS, B. A. S. Estádio de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos e de textura da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 380-386, 2006.
- ÖLMEZ, H.; AKBAS, M. Y. Optimization of ozone treatment of fresh-cut Green leaf lettuce. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 487-494, 2009.
- O'NEIL, M. E.; THURNHAM, D. J. Inestinal absorption of beta-caotene, lycopene and lutein in men and womem following a standard meal: response curves in the triacylglycerol-rich lipoprotein fraction. **British Journal of Nutrition**, S. 1, v. 79, n. 2, p. 149-159, 1998.
- ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected redg rape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, v. 111, p. 235-241, 2007.
- PADDA, M. S. & PICHA, D. H. Effect of low temperature storage on phenolic composition and antioxidant activity of sweetpotatoes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, p. 176-180, 2008.
- PADULA, M. L.; CARCIOFI, B. A. M.; DANNENHAUER, C. E.; STRINGARI, G. B.; MONTEIRO, A. R. Influência de diferentes tipos de embalagens nas características físico-químicas e composição gasosa de brócolis (*Brassica oleracea* L. var *Italica*) orgânicos minimamente processados e armazenados sob refrigeração. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 259-268, 2006.
- PALOU, L.; CRISOSTO, C. H.; SMILANICK, J. L.; ADASKAVEG, J. E.; ZOFFOLI, J. P. Effect of continuos 0.3 ppm ozone exposure on decay development and

- physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, v. 24, p. 39-48, 2002.
- PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V.T. Biotechnological potential of agro-industrial residues: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 69-80, 2000.
- PATARO, L. L. & SILVEIRA JÚNIO, V. Relação entre o período de pós-colheita e o Degree-Time no resfriamento de rúcula. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 6, n. 2, p. 157-164, 2004.
- PICCHI, V.; MIGLIORI, C.; SCALZO, R. L.; CAMPANELLI, G.; FERRARI, V.; CESARE, L. F. D. Phytochemical content in organic and conventionally grown Italian cauliflower. **Food Chemistry**, v. 130, p. 501-509, 2012.
- PEREIRA, M. F. C., CANTILLANO, F. F., GUTIEREZ, A de S. D., ALMEIDA, G. V. B. de. Procedimentos pós-colheita na produção integrada de citros. **EMBRAPA**, documento 56, 2006.
- PIMENTEL, C. V. de M. B. et al. **Alimentos funcionais: Introdução às principais substâncias biotivas em alimentos**. 1. ed. Lavras: Editora Varela, 2005. 95p.
- POPOVA M.; BANKOVA V.; BUTOYSKA D.; PETKOV V.; NIKOLOVA-DAMYANOVA B.; SABATINI A.G.; MARCAZZAN G.L., BOGDANOV S. 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochemical Analysis**, v. 15, p. 235–240, 2004.
- PY, C., LACOEUILHE, J.J., TEISSON, C. (1984) **L'ananas: sa culture, sés produits**. Paris: Maisonneuve, 563p.
- RIBEIRO, R. A.; FINGER, F. L.; PUIATTI, M.; CASALI, V. W. D. Vida útil e metabolismo de carboidratos em raízes mandioca-salsa sob refrigeração e filme de PVC. **Pesq. Agropec. Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 453-458, 2007.
- REIS, K. C.; ELIAS, H. H. S.; LIMA, L. C. O.; SILVA, J. D. S.; PEREIRA, J. Japanese cucumber (*Cucumis sativus* L.) submitted of the treatment with cassava starch film. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 3, p. 487-493, 2006.
- REN, H.; ENDO, H.; HAYASHI, T. 2001. The superiority of organically cultivated vegetables to general ones regarding antimutagenic activities. **Mutation Research**, v. 496, p. 83-88, 2001.

- RICHARDSON, S. D.; THRUSTON JR., A. D.; CAUGHRAN, T. V.; CHEN, P. H.; COLLETTE, T. W.; SCHENCK, K. M.; LYKINS, JR. B. W.; RAV-ACHA, C.; GLEZER, V. Identification of new drinking water disinfection byproducts from ozone, chlorine dioxide, chloramine, and chlorine. **Water, Air, and Soil Pollution**, v.123, p. 95-102, 2000.
- RICO, D.; MARTÍN-DIANA, A. B.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 373-386, 2007.
- ROCHA, F. D.; PEREIRA, R. C.; KAPLAN, M. A. C.; TEIXEIRA, V. L. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 631-639, 2007.
- ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.1, p. 53-60, 2007.
- ROSSETTO, M. R. M., VIANELLO, F.; ROCHA, S. A.; LIMA, G. P. P. Antioxidant substances and pesticide in parts of beet organic and conventional manure. **African Journal of Plant Science**, v. 3, n. 11, p. 245-253, 2009.
- ROSSETO, M. R. M.; SHIGA, T. M.; VIANELLO, F.; LIMA, G. P. P. Analysis of total glucosinolates and chromatographically purified benzylglucosinolate in organic and conventional vegetables. **LWT - Food Science and Technology**. *In press*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.022>, 2012.
- SALUNKHE, D. K., KADAM, S. S. **Tratado de ciencia y tecnología de las hortalizas**: producción, composición, almacenamiento y procesado. 1. ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, 2004. 739p.
- SAMPAIO, D. B.; ARAÚJO, A. S. F. de; SANTOS, V. B. dos. Avaliação de indicadores biológicos de qualidade do solo sob sistemas de cultivo convencional e orgânico de frutas. **Ciência Agrotec.**, v. 32, n. 2, p. 353-359, 2008.
- SANTIAGO-SILVA, P.; LABANCA, R. A.; GLORIA, M. B. A. 2011. Functional potential of tropical fruits with respect to free bioactive amines. **Food Research International**, v. 44, p. 1264-1268, 2011.
- SANTOS, C. M. S.; BOAS, E. V. de B. V.; BOTREL, N.; PINHEIRO, A. C. M. Influência da atmosfera controlada sobre a vida pós-colheita e qualidade de banana 'Prata Ana'. **Ciência Agrotec.**, v. 30, n. 2, p. 317-322, 2006.

- SANTOS, R. H. S.; SILVA, F.; CASALI, V. W. D.; CONDÉ, R. A. Conservação pós-colheita de alface cultivada com composto orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 521-525, 2001.
- SCHOEFS, B. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, p.361-371, 2002.
- SCHUPLAN, W. Nutritional value of crops as influenced by organic and inorganic fertilizer. **Qualitas Plantarum**, v. 23, p. 333-358, 1974.
- SEIBERT, E.; GONZÁLEZ, S.; ORELLANA, A.; LUCHSINGER, L.; BENDER, R. J. Efecto del acondicionamiento previo al almacenaje refrigerado sobre la calidad de ciruelas 'Constanza'. **Bragantia**, v. 67, n. 1, p. 233-242, 2008.
- SEGOVIA-BRAVO, K. A.; JARÉN-GALÁN; GARCÍA-GARCÍA, GARRIDO-FERNÁNDEZ. Browning reactions in olives: mechanism and polyphenols involved. **Food Chemistry**, v. 114, p. 1380-1385.
- SELMA, M. V.; IBÁÑEZ, A. M.; CANTWELL, M.; SUSLOW, T. Reduction by gaseous ozone of Salmonella and microbial flora associated with fresh-cut cantaloupe. **Food Microbiology**, v. 25, p. 558-565, 2008.
- SESTARI, I.; GIEHL, R. F. H.; PINTO, J. A. V.; BRACKMANN, A. Condições de atmosfera controlada para pêssegos 'Maciel' colhidos em dois estádios de maturação. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1240-1245, 2008.
- SILVA, A. V. C., et al. Packing and refrigeration for atemoya preservation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 300-304, 2009.
- SILVA, P. M. et al. **Produção integrada de frutas** – PIF. Fortaleza: Instituto Frutal, 2004. 105p.
- SILVA, F. A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: **American Society of Agricultural and Biological Engineers.**, 2009.
- SILVA, R. G.; GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V.; SILVA, D. G., ARNHOLD, E. Produtividade de variedades de milho nos sistemas de cultivo orgânico e convencional. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 3, p. 78-85, 2008.

- SINGLETON V.L.; ROSSI J.A.Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**,16:144-158, 1965.
- SOUSA, A.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives “alcaparras”. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n.4, p.739-745, 2008.
- SOUSA, C. M. de M.; SILVA, H. R. e; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. da C.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
- SOUZA, J. L. & RESENDE, P. **Manual de Horticultura Orgânica**. 2 ed. Viçosa: Aprenda Fácil Editora, 2006, 843 p.
- SUHONEN, I. Growth, bolting and yield quality of “radicchio rosso”. **Scientia Horticulturae**, v. 46, p. 25-31, 1991.
- STARZYŃSKA, A.; LEJA, M.; MARECZEK, A. Physiological changes in the antioxidant system of broccoli flower buds senescing during short-term storage, related to temperature and packaging. **Plant Science**, v.165, p. 1387-1395, 2003.
- TERADA, M., WATANABE, Y.; KUNITOMA, M.; HAYASHI, E. Differential rapid analysis of ascorbic acid and ascorbic acid 2-sulfate by dinitrophenylhydrazine method. **Annals of Biochemistry**, v. 84, p. 604-608, 1978.
- TEREFE, N. S.; YANG, Y. H.; KNOERZER, K.; BUCKOW, R.; VERSTEEG, C. High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 52-60, 2010.
- TRESSLER, D. J.; JOSLYN, M. A. **Fruits and vegetable juice processing**. Westport: AVI, 1961. 1028 p.
- VALLVERDÚ-QUERALT, A.; MEDINA-REMÓN, A.; CASALS-RIBES, I.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Is there any difference between the phenolic content

- of organic and conventional tomato juices?. **Food Chemistry**, v. 130, p. 222-227, 2012.
- VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. de F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. da S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para a sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.
- VELLOSA, J. C. R.; BARBOSA, V. de F.; OLIVEIRA, O. M. M. de F. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 119-130, 2007.
- VILCKAS, M.; NANTES, J. F. D. Agregação de valor: uma alternativa para a expansão do mercado de alimentos. *Organizações Rurais e Agroindustriais*, v. 9, n. 1, p. 26-37, 2007.
- ZADERNOWSKI, R. CZAPLICKI, S. NACZK, M. Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). **Food Chemistry**, v. 112, p. 685-689, 2009.
- WARMAN, P. R. & HAVARD, D. A. Yield, vitamin and mineral contents of organically and conventionally grown potatoes and sweet corn. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 68, p. 207-216, 1997.
- WILDMAN, R. E. C. et al.. **Handbook of Nutraceuticals and Functional Food**. Boca Raton: CRC Press, 2001. Cap. 8, p. 127-142.
- WINTER, C. F. & DAVIS, S. F. 2006. Organic foods. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 9, p. 117-124.
- WOESE, K.; LANGE, D.; BOESS, C.; BOGL, K. W. 1997. A comparison of organically and conventionally grown foods: Results of a review of the relevant literature. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.74, p. 281-293.
- WORTHINGTON, V. Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables, and grains. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 7, n. 2, 2001, p. 161-173, 2001.
- YOUNG, J. F.; NIELSEN, S. E.; HARALDSDOTTIR, J.; DANESHVAR, B.; LAURIDSEN, S. T.; KNUTHSEN, P.; CROZIER, A.; SANDSTROM, B.; DRAGSTED, L. O. 1999. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion

and biomarkers of antioxidative status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p.87-94.

YUK, H.; YOO, M.; YOON, J.; MARSHALL, D. L.; OH, D. Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on enoki mushroom. **Food Control**, v. 18, p. 548-553, 2007.

---



## ANEXOS





Ozônio 10

Ozônio 5

Cloro

Água



Ozônio 10

Ozônio 5



Cloro

Água



Distribuição dos brocolis dentro da câmara fria a  $6 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .