



INSTITUTO FEDERAL DE BRASÍLIA

CAMPUS GAMA

CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

Mário Adriano Vicentin

**ELABORAÇÃO DE PRODUTO TECNOLÓGICO, AVALIAÇÃO
FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E DE ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE TOTAL DE RESÍDUO DO PROCESSAMENTO
MÍNIMO DA COUVE**

BRASÍLIA

2019

Mário Adriano Vicentin

**ELABORAÇÃO DE PRODUTO TECNOLÓGICO, AVALIAÇÃO
FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E DE ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE TOTAL DE RESÍDUO DO PROCESSAMENTO
MÍNIMO DA COUVE**

Monografia apresentada ao Curso Superior em Tecnologia em Alimentos do *Campus* Gama do Instituto Federal de Brasília como requisito parcial para obtenção do título Tecnólogo em Alimentos

Orientadora: Prof^a Dr^a Eliane Maria Molica

Coorientadora: Prof^a Dr^a Abiah Narumy Ido de Abreu e Nery

Brasília
2019

633.42:664

v633e

Vicentin, Mario Adriano

Elaboração de produto tecnológico, avaliação / Mário Adriano Vicentin ;
orientação Profa. Dra. Eliane Maria Molica — Brasília, 2019.

55 f.

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Maria Molica.

Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação — Tecnológico em
Alimentos) — Instituto Federal de Brasília, Campus Gama, 2019.

1. Couve. 2. Resíduo Agroindustrial. 3. Minimamente Processado. I.
Molica, Eliane Maria , orient. II. Título.

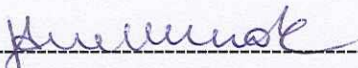
Mario Adriano Vicentin

**ELABORAÇÃO DE PRODUTO TECNOLÓGICO, AVALIAÇÃO FÍSICO-
QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DE
RESÍDUO DO PROCESSAMENTO MÍNIMO DA COUVE**

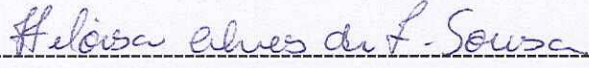
Monografia apresentada ao
Curso Superior de
Tecnologia em Alimentos do
Campus Gama do Instituto
Federal de Brasília como
requisito parcial para
obtenção do título Tecnólogo
em Alimentos.

Aprovação em 09 de dezembro de 2019.

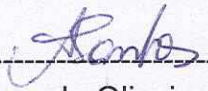
BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dra. Eliane Maria Molica – Orientadora



Prof^a. Dra. Heloísa Alves de Figueiredo Sousa – Membro Interno



Prof^a. Dr^a. Adriana de Oliveira dos Santos Alfani – Membro Interno

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que pela intercedência divina me concederam o dom da vida e, durante toda ela, me forneceram suporte para a realização dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de realização deste sonho.

À minha esposa Sandra, que me apoiou durante os últimos 3 anos e me deu suporte para que minha missão se tornasse menos cansativa.

Aos meus filhos, Gabriel Vicentin e Vinícius Vicentin, que por muitas vezes foram deixados para segundo plano em função dessa realização.

À minha orientadora, Eliane Maria Molica que nunca mediu esforços para me auxiliar nessa caminhada, compartilhando todo seu conhecimento, buscando oportunidades e ensinando como ser um profissional.

À minha co-orientadora Abiah Narumy Nery que me auxiliou no início deste projeto e me proporcionou experiências profissionais inesquecíveis.

Aos técnicos de laboratório em especial Elaine e Ronaldo, que me auxiliaram nas análises físico-químicas me transmitido um pouco dos seus conhecimentos.

À minha amiga Roberta que fez a tradução do resumo.

Ao Apoio Discente, em especial a Nelma que ao longo destes anos sempre procurou formas de mitigar o meu cansaço face a rotina de trabalho noturno e estudo.

Aos professores que são excelentes profissionais que fazem com que o IFB, em especial o Campus Gama, seja referência de ensino.

Por último e não menos importante aos meus colegas de sala, em especial à Maria Divina e Pedro Henrique que passaram pelo mesmo processo de transformação sempre me dando apoio e perseverando por este momento.

“Não é a morte que me importa, porque ela é um fato. O que me importa é o que eu faço da minha vida enquanto minha morte não acontece, para que essa vida não seja banal, superficial, fútil, pequena.” (CORTELA, M. S.).

RESUMO

As indústrias de alimentos minimamente processados geram um grande número de subprodutos e resíduos, resultantes dos beneficiamentos. Visto essa realidade, o objetivo deste trabalho foi utilizar o resíduo do processamento mínimo da couve na formulação de um produto tecnológico, bem como, realizar avaliação físico-química, microbiológica e atividade antioxidante total deste resíduo, comparando duas cultivares couve-Manteiga (M) e Hi-Crop (H). O material utilizado foi o resíduo proveniente da centrifugação de couve picada minimamente processada de uma agroindústria da região de Brasília/DF. O estudo foi dividido em dois experimentos. No primeiro experimento, foram elaboradas três formulações de uma bebida a partir de um líquido (água e couve) com composição próxima ao resíduo centrifugado obtido no processamento mínimo de couve, acrescido de suco de maçã, limão e gengibre. No segundo experimento os resíduos obtidos no processamento mínimo de couve, foram avaliados quanto à umidade, sólidos solúveis totais, acidez titulável total, pH, cloro residual, presença de coliformes totais e termotolerantes, *Staphilococcus aureus* e atividade antioxidante total. Foram utilizados como procedimentos metodológicos, determinação de cor e textura para a melhor formulação. Para a avaliação físico-química usou-se metodologias do Instituto Adolfo Lutz e nas avaliações microbiológicas foi utilizada a técnica de Número Mais Provável (MNP), os resultados obtidos na técnica de tubos múltiplos (TTM) foi processada por meio da Tabela de Hoskins. A capacidade antioxidante total foi determinada por espectrofotometria pelo método de complexação do fosfomolibidênio. Como resultados obtidos a melhor relação cor e textura para a bebida foi apresentada na formulação 2. O teor de umidade encontrado foi em média para couve-Manteiga (M) 98,46% e Hi-Crop (H) 98,26% respectivamente. Os teores de sólidos solúveis foram (M) 2,10 °Brix e (H) 2,17 °Brix, a acidez titulável (M) 0,83% v/v (H) 0,94, o pH encontrado (M) 6,19 (H) 6,15 e cloro residual de 10 mg/L para ambas. Houve indicação de contaminação para coliformes totais e termotolerantes, porém não evidenciada presença de *Escherichia coli* e resultado negativo para a análise de *Staphilococcus* coagulase positiva nos resíduos. Não houve detecção da atividade antioxidante total para as cultivares estudadas. Com os resultados obtidos conclui-se que a produção de uma bebida com o resíduo se mostra viável, porém é imprescindível um tratamento tecnológico prévio. As

amostras apresentaram semelhanças em quase todas as caracterizações, diferenciando somente na caracterização físico-química no teor de acidez titulável total, a couve Hi-crop (H) apresentou uma maior acidez. Novos estudos para determinação de atividade antioxidante total deverão ser realizados.

Palavras-chave: Couve. Resíduo Agroindustrial. Minimamente Processado.

ABSTRACT

Minimally processed food industries generate a large number of by-products and residues resulting from processing. In view of this reality, the objective of this work was to use the minimum processing cabbage residue in the formulation of a technological product, as well as to perform physicochemical, microbiological and total antioxidant activity evaluation of this residue, comparing two cabbage Butter (M) cultivars. and Hi-Crop (H). The material used was the residue from the centrifugation of fresh minced kale from an agribusiness in the region of Brazlândia / DF. The study was divided into two experiments. In the first experiment, three formulations of a drink were prepared from a liquid (water and kale) with a composition close to the centrifuged residue obtained in the minimum processing of kale, plus apple juice, lemon and ginger. In the second experiment the residues obtained from the minimum cabbage processing were evaluated for moisture, total soluble solids, total titratable acidity, pH, residual chlorine, presence of total and thermotolerant coliforms, *Staphylococcus aureus* and total antioxidant activity. The methodological procedures used were color and texture determination for the best formulation. For the physicochemical evaluation we used methodologies from the Adolfo Lutz Institute and for microbiological evaluations the Most Probable Number (MNP) technique was used, the results obtained in the multiple tube technique (TTM) were processed through the Hoskins Table. Total antioxidant capacity was determined by spectrophotometry using the phosphomolibden complexation method. As results obtained the best color and texture ratio for the drink was presented in formulation 2. The moisture content found was on average for Cabbage (M) 98.46% and Hi-crop (H) 98.26% respectively. Soluble solids contents were (M) 2.10 °Brix and (H) 2.17 °Brix, titratable acidity (M) 0.83% v / v (H) 0.94, the pH found (M) 6.19 (H) 6.15 and 10 mg / L residual chlorine for both. Contamination was indicated for total and thermotolerant coliforms, but there was no evidence of *Escherichia coli* and negative result for positive coagulase *Staphylococcus* analysis in the residues. There was no detection of total antioxidant activity for the cultivars studied. With the obtained results it is concluded that the production of a drink with the residue is viable, but a previous technological treatment is indispensable. The samples showed similarities in almost all characterizations, differing only in the

physicochemical characterization in the total titratable acidity content, the cabbage Hi-crop (H) presented a higher acidity. Further studies to determine total antioxidant activity should be performed.

Keywords: Cabbage. Agroindustrial residue. Minimally Processed.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulações da bebida mista de couve, maçã, limão e gengibre.....	31
Tabela 2- Percentuais de umidade para amostras de resíduo da centrifugação da couve minimamente processada.....	42
Tabela 3 - Valores de sólidos solúveis expressos em graus Brix para amostras de resíduo da centrifugação da couve minimamente processada.....	43
Tabela 4 - Valores de acidez titulável expresso em mL gastos de NaOH para os resíduos da centrifugação da couve minimamente processada.....	43
Tabela 5 - Valores de pH para as amostras de resíduo da centrifugação da couve minimamente processada.	44
Tabela 6 - Resultados da análise microbiológica para amostras de resíduo da centrifugação da couve minimamente processada.	45

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estrutura química da clorofila.....	18
Figura 2: Estrutura da molécula de luteína.....	19
Figura 3: Número de alimentos funcionais registrados na ANVISA 2010 a 2012..	22
Figura 4: Fluxograma da couve minimamente processada.....	23
Figura 5: Couve manteiga	32
Figura 6: Couve Hi-Crop.....	32
Figura 7: Teor de umidade	33
Figura 8: Teor de sólidos solúveis.....	34
Figura 9: Acidez titulável	35
Figura 10: Determinação do pH	36
Figura 11: Cloro residual	36
Figura 12: Análise de coliformes totais e termotolerantes	38
Figura 13: Análise de Staphylococcus coagulase positiva	39
Figura 14: Análise de atividade antioxidante total	40
Figura 15: Ágar Levine Azul de Metileno (L-EMB) colonizado por Escherichia coli	46
Figura 16: Ágar Levine Azul de Metileno (L-EMB) colonizado pela amostra analisada.....	46

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Couve: definição e propriedades	17
2.2 Antioxidantes.....	19
2.3 Bebidas funcionais.....	20
2.4 Processamento mínimo de frutas e hortaliças	22
2.5 Couve minimamente processada.....	23
2.5.1 Descrição do fluxograma.....	24
2.5.1.1 Colheita.....	24
2.5.1.2 Resfriamento	24
2.5.1.3 Seleção, classificação e lavagem	24
2.5.1.4 Corte.....	25
2.5.1.5 Sanitização e enxágue.....	25
2.5.1.6 Centrifugação	26
2.5.1.7 Embalagem.....	26
2.5.1.8 Armazenamento	26
2.6 Qualidade microbiológica.....	27
2.7 Aproveitamento de resíduos agroindustriais.	27
3. OBJETIVOS	29
3.1 Objetivo geral	29
3.2 Objetivos específicos.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Experimento 1 - Produto Tecnológico.....	29
4.1.1 Materiais.....	29
4.1.2 Métodos.....	30
4.2 Experimento 2 - Análises.....	32
4.2.1 Materiais.....	32
4.2.2 Métodos.....	32
4.2.2.1 Avaliação Físico-química.....	33
4.2.2.1.1 Teor de umidade.....	33
4.2.2.1.2 Teor de sólidos solúveis.....	33

4.2.2.1.3 Acidez titulável total	34
4.2.2.1.4 Determinação do pH.....	35
4.2.2.1.5 Cloro residual	36
4.2.2.2 Avaliação microbiológica	37
4.2.2.2.1 Análise de coliformes totais e termotolerantes	37
4.2.2.2.2 Análise de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	38
4.2.2.3 Análise de atividade antioxidante total	39
4.2.2.4 Delineamento experimental	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 Experimento 1 - Produto tecnológico.....	41
5.2 Experimento 2.....	42
5.2.1 Avaliação Físico-química.....	42
5.2.1.1 Teor de umidade.....	42
5.2.1.2 Teor de sólidos solúveis.....	42
5.2.1.3 Acidez titulável total.....	43
5.2.1.4 Determinação de pH.....	44
5.2.1.5 Cloro residual	44
5.2.2 Avaliação microbiológica	45
5.2.3 Análise de atividade antioxidante total	46
6. CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1. INTRODUÇÃO

A couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) é uma hortaliça arbustiva anual, que produz folhas que podem ser consumidas tanto cruas como em salada ou cozidas. É uma hortaliça de grande consumo em médios e grandes centros urbanos (MORETTI et al., 2000). O volume de produção de couve produzido no Distrito Federal em 2017 foi de 8.707.550 Kg. Nas Centrais de Abastecimento do Distrito Federal - CEASA foram comercializadas em 2015 253.085 Kg da hortaliça e em 2016 384.793 kg (MELO, 2017).

Existem várias cultivares dessa hortaliça, dentre elas a Chou Beurre, a Geórgia, a Manteiga Ribeirão Pires, a IAC, a Manteiga Jundiaí, a Pé Alto e a Portuguesa, além das híbridas como a Hi-crop e a Hevi-crop, dessas as cultivares do tipo manteiga são as mais consumidas e utilizadas para o processamento mínimo. Estas hortaliças são fonte de minerais tais como: ferro, cálcio, fonte de fibras, vitaminas, antioxidantes e compostos fenólicos que tem a função de proteger o corpo e os alimentos do estresse oxidativo (BAENAS; MORENO; GARCIA-VIGUERA, 2012).

Porém, o conteúdo de nutrientes pode variar por diversos fatores tais como, tempo, temperatura, grau de maturação, variedade, clima, processamento entre outros (BAENAS, MORENO; GARCIA-VIGUERA, 2012; BERNHARDT; SCHLICH, 2006).

Vegetais minimamente processadas são aqueles cortados e prontos para o consumo, sem perder seu aspecto fresco (FONSECA, 2009). Segundo Willey (1997), são produtos preparados através de uma ou várias operações apropriadas, tais como descascamento, fatiamento, corte e conservação através de tratamentos de prevenção podendo ser isolados ou combinados.

Durante o processamento mínimo de folhas de couve são realizadas as operações de seleção, classificação e lavagem, corte, sanitização e enxágue, centrifugação e embalagem, obtendo-se assim um produto fresco e saudável, que não necessite de preparo subsequente. Na centrifugação ocorre a retirada do excesso de água e fluidos celulares resultantes das etapas de lavagem e fatiamento (MORETTI, 2007). O líquido da centrifugação que corresponde a aproximadamente 10% do total de couve processada é encaminhado juntamente com a água residual

gerada pelas agroindústrias que são lançadas no meio ambiente, que podem não passar por nenhum tratamento.

O objetivo deste trabalho foi utilizar o resíduo do processamento mínimo da couve na formulação de um produto tecnológico, bem como, realizar avaliação físico-química, microbiológica e atividade antioxidante total deste resíduo, comparando duas cultivares couve-Manteiga e Hi-Crop.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Couve: definição e propriedades

A couve de folha (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), hortaliça de produção anual ou bienal, da família *Brassicaceae*, é também conhecida como couve-comum ou couve-manteiga. Apresenta grande diversidade morfológica principalmente quanto ao formato das folhas, que apresentam formas e cores diferentes e da estrutura física da planta, que mostra em todos os genótipos porte ereto sendo que algumas apresentam maior cobertura do solo e altura em relação às outras (NOVO, 2011). É uma hortaliça de origem europeia e seu consumo vem aumentando bastante nos últimos anos, possivelmente pelas novas apresentações na culinária e por recentes descobertas da ciência relativas às suas propriedades nutricionais e medicinais.

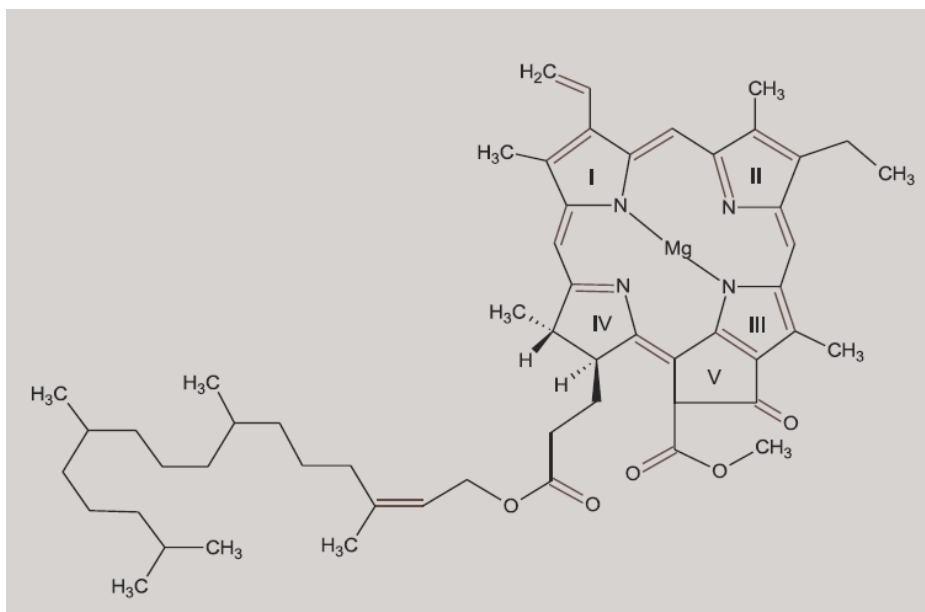
Segundo Luengo (2011) a couve aparece entre as dez hortaliças mais ricas em diferentes vitaminas e minerais, ou seja, 100 g de couve contribui para o fornecimento de várias vitaminas e sais minerais ao mesmo tempo, é um alimento muito rico para nutrir o organismo. Comparada à outras hortaliças folhosas, a couve destaca-se pela grande quantificação de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro, iodo, vitamina A, niacina e vitamina C, destaca-se ainda, por apresentar alta concentração de clorofila e carotenóides, contendo a maior contagem de luteína e beta caroteno dentre elas (TRANI, 2015).

A clorofila, do ponto de vista químico, não é uma molécula isolada e sim compreende uma família de substâncias semelhantes entre si classificadas como clorofila *a*, *b*, *c* e *d*. Estruturalmente são moléculas bastante complexas pertencentes à classe das porfirinas, que são formadas por 4 anéis pirrólicos e um quinto anel isocíclico, localizado ao lado do terceiro anel pirrólico (GROSS, 1991; RÜDIGER; SCHOCH, 1988).

Mais abundantemente encontrada e a mais importante da família, a clorofila “*a*”, corresponde a algo em torno de 75% dos pigmentos verdes encontrados nos vegetais (GROSS, 1991). A clorofila “*b*” se difere da clorofila “*a*” por uma pequena

variação no anel pirrólico II. As clorofilas “c” e “d” estão disponíveis em algumas algas (SCHWARTZ; LORENZO, 1990). Uma representação da molécula da clorofila “a” pode ser observada na Figura 1.

Figura 1: Estrutura química da clorofila



Fonte: LANFER-MARQUEZ, 2003

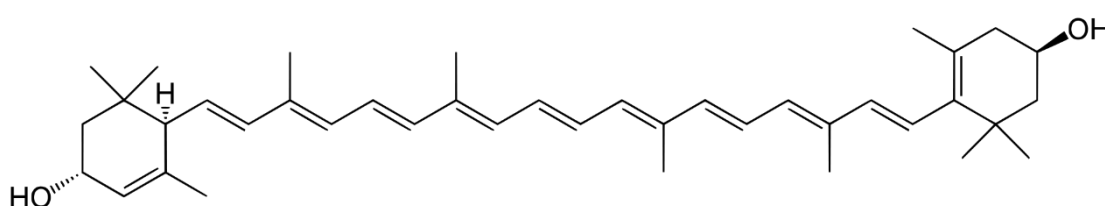
Pesquisas realizadas em busca de comprovar as atividades antioxidantes e quimiopreventiva da clorofila e de seus derivados ganharam impulso a partir dos anos oitenta (CENKOWSKI; JAYAS, 1993). No final dos anos 90 foram realizados estudos sobre os efeitos antimutagênicos e anticancerígenos da clorofila, visto que estes estão frequentemente relacionados com a atividade antioxidante, embora que por um mecanismo indireto. Existem alguns estudos que atribuem à clorofila e ao seu derivado sintético, a clorofilina cúprica, potente atividade antimutagênica (CHENORMORSKY et al., 1999; DASHWOOD, 1997; DASHWOOD et al., 1998; NEGISHI; HAYATSU, 1997; ODIN, 1997).

Os carotenóides são compostos naturais formados por duplas ligações conjugadas. Exercem ação antioxidante por meio do sequestro e eliminação dos radicais livres, trazem uma série de benefícios ao organismo (FONTANA, 2000). A correlação entre altos níveis de carotenóides e benefícios à saúde apareceu na literatura na década de 70, na época associava-se às dietas ricas em frutas e legumes ao reduzido índice de câncer e doenças coronárias. Em consequência, a

população foi encorajada a consumir ao menos 5 porções de frutas e hortaliças diariamente, o que seria equivalente a aproximadamente 6 mg de carotenóides (FRASER, 2004). Desde então esta correlação foi citada, avaliada e confirmada por uma série de outros autores (BEATTY, 1999; BONE, 2001; CHASAN-TABER, 1999; EL-AGAMEY, 2004; RISO, 2004, E YEMELYANOV; et al. 2001).

A luteína é um carotenoide macular de pigmentação amarela, potente antioxidante que atua na prevenção dos danos causados pelos radicais livres nos tecidos (ALVES-RODRIGUES; SHAO, 2004). De acordo com Dagnelie et al. (2000) este pigmento protege os fotorreceptores foveal ao filtrar a luz azul prejudicial à mácula, reduzindo em até 40% a incidência da luz danosa à retina ocular. A perda da sensibilidade visual, problema comum com idade avançada e baixa densidade do pigmento macular nos tecidos oculares, pode ser a precursora de algumas doenças dos olhos, incluindo a degeneração macular relacionada à idade (DMRI). Dentre os benefícios da luteína, além das evidências na redução do risco da DMRI, destacam-se ainda os efeitos preventivos a aterosclerose, a catarata, o câncer e outras doenças (AMAN, 2005; BROW et al., 1999; CHASAN-TABER et al. 1999; DAGNELIE; ZORGE; MCDONALD, 2000; DELI, et al., 1994; KRINSKY; JONHSON, 2005; SUMANTRAN et al. 2000). Na Figura 2, segue a estrutura da molécula de luteína.

Figura 2: Estrutura da molécula de luteína.



Fonte: MAZUNDER, et. al., 2014

2.2 Antioxidantes

Antioxidante uma substância capaz de retardar ou impedir alterações em alimentos relacionadas à oxidação, tais como a rancidez oxidativa e os *off-flavors*, estando presente em pequenas concentrações comparado ao agente oxidante. Essas substâncias podem apresentar diversas propriedades protetivas agindo em

diferentes etapas do processo oxidativo por meio de diferentes mecanismos e são, portanto, classificadas em duas categorias principais: antioxidantes primários e secundários. Os primários são aqueles compostos de ação antioxidante capazes de inibir ou retardar a oxidação por inativação de radicais livres graças à doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons, trazendo estabilidade eletrônica à molécula. Os antioxidantes secundários apresentam uma grande variedade de modos de ação: ligação de íons metálicos (alteração de valência); inativação de ERO, conversão de hidroperóxidos em espécies não-radicares ou absorção de radiação Ultravioleta - UV (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT; PONGSAWATMANIT, 2007).

Os alimentos contêm, naturalmente ou introduzidos no processamento, compostos oxidantes (WATERS,1996). Em contrapartida, alguns alimentos como as frutas, as verduras e os legumes, também contêm agentes antioxidantes, tais como as vitaminas C, E e A, a clorofilina, os flavonóides, carotenóides, curcumina e outros que são capazes de impedir a propagação das reações em cadeia e as lesões provocadas por esses radicais (STAVRIC, 1994; FOTSIS, 1997; POOL-ZOBEL, 1997).

2.3 Bebidas funcionais

O conceito de alimento funcional foi desenvolvido no Japão nos anos oitenta, na ocasião foi criada uma regulamentação para aprovar determinados alimentos que apresentassem comprovadamente benefícios para a saúde, por conterem substâncias que desempenhassem um papel específico nas funções fisiológicas do organismo humano além do seu papel nutricional (CARLSEN, 2010; OLIVEIRA, 2013). Na Europa, apenas nos anos noventa foi dada a devida importância ao assunto surgindo nessa época o conceito de "alimento funcional" (MORAES, 2006).

A Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999 do Ministério da Saúde, define alimento funcional como aquele que tem papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano (BRASIL, 1999).

Segundo Ashwell (2002), os alimentos funcionais não compõem um tipo único bem definido e devidamente caracterizado, entretanto a Comissão Europeia de Ação Concertada sobre Bromatologia Funcional na Europa (FUFOSE) definiu o alimento funcional como sendo "aquele que demonstra afetar benéficamente uma ou mais funções específicas do corpo, de forma que seja relevante para o bem-estar e saúde ou para a redução do risco de doenças, para além de produzir os efeitos nutricionais adequados" (ALVÍDREZ-MORALES, 2002). Para ser considerado alimento funcional, este não poderá ser um comprimido, uma cápsula ou um suplemento alimentar. Trata-se de um alimento que consegue reparar certos distúrbios metabólicos, permitindo diminuir o risco do desenvolvimento de doenças crônicas (MORAES, 2006; EUROPEAN COMMISSION, 2010).

O Brasil apresenta um grande potencial na produção de sucos, mercado que se encontra em plena expansão, com mais de 20 polos de fruticultura distribuídos nas regiões Norte (Amazônia), Sul (frutas de clima temperado) e Nordeste (culturas irrigadas no semiárido). Várias dessas frutas apresentam significativa quantidade de compostos funcionais como carotenóides, polifenóis e ácido ascórbico (ROSA et al., 2006).

As maiores tendências e perspectivas do mercado de bebidas estão voltadas em ordem decrescente para água aromatizada, chás, isotônicos, bebidas mistas, refrescos, néctares, sucos e bebidas lácteas com frutas (ROSA et al., 2006).

Visto a grande procura por esses produtos, a indústria tem investido intensamente em tecnologia para a formulação de novos produtos com características funcionais, evitando a adição de conservantes químicos o que nestes casos depreciam a imagem funcional do produto. Do mesmo modo, os fabricantes de embalagens têm buscado novas tecnologias buscando se adequar às exigências impostas por esses novos produtos (CAMARGO et al., 2007).

No período de 2000-2012 foi percebido um aumento expressivo do número que alimentos e bebidas que solicitaram registro ou renovação dele junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, conforme Figura 3.

Figura 3: Alimentos funcionais registrados na ANVISA 2010 a 2012.



Fonte: <https://valor.globo.com/empresas/noticia/2013/03/28/produto-funcional-e-mais-carro-e-vende-mais.ghtml>

2.4 Processamento mínimo de frutas e hortaliças

Produtos minimamente processados podem ser definidos como frutas ou hortaliças ou ambas combinadas que sofreram alterações físicas, porém permanecem em estado fresco, inclui-se a essas alterações seleção, classificação, pré-lavagem, corte, fatiamento, sanitização, enxágue, centrifugação e embalagem, na maioria das vezes sem a necessidade de um preparo posterior para o consumo (MORETTI, 2000).

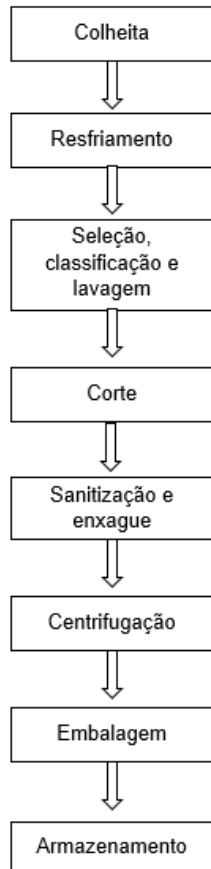
A tecnologia de alimentos voltada ao processamento mínimo de frutas e hortaliças no Brasil experimentou nos últimos anos um significativo crescimento, proporcionado pelo melhor domínio dos processos a ele associados, graças ao empenho de diferentes grupos de pesquisa e desenvolvimento, o que gerou um número expressivo de projetos, publicações, palestras, seminários, treinamentos, teses e dissertações de cursos de pós-graduação sobre o assunto (MORETTI, 2007). Segundo Carnellosi (2002), há um grande interesse na produção de frutas e hortaliças minimamente processadas em função das mudanças na vida da população que diminuiu o tempo disponível para o preparo de alimentos em especial os vegetais. No Brasil existem vários vegetais minimamente processados sendo a couve um deles que é altamente consumido por seu uso facilitado pelo processamento mínimo.

2.5 Couve minimamente processada

Para se obter sucesso no processamento mínimo da couve são necessários alguns cuidados antes mesmo da colheita. Alguns cuidados durante a cultura devem ser observados como a nutrição mineral manejo da água e do solo entre outros (MORETTI, 2000). De acordo com Fonseca (2009) para a couve ser submetida ao processamento mínimo, deve ser colhida no ponto de maturidade hortícola, com as dimensões entre 35 e 40 cm, sem nenhum tipo de lesão, sejam elas de origem mecânicas ou de origem biótica. Uma das vantagens para o processamento da couve por indústrias é que não há exigência de um horário específico para a colheita, desta forma é possível processar outros vegetais nos horários mais frios do dia. As folhas colhidas devem ter o pecíolo imerso em água e serem conservados em câmara fria a 5° C, por 4 a 8 horas, recuperando assim a turgescência.

O fluxograma abaixo representa as etapas do processamento mínimo de folhas de couve inclui várias operações conforme Figura 4:

Figura 4: Fluxograma da couve minimamente processada.



2.5.1 Descrição do fluxograma

2.5.1.1 Colheita

A colheita mais indicada para a couve que vai ser submetida ao processamento mínimo é a manual, que também é a mais praticada pelos produtores. Deve ser realizada preferencialmente nos horários mais frescos do dia proporcionando assim o controle da temperatura do produto. Todos os utensílios usados para a colheita devem estar limpos e higienizados. As caixas de plástico que serão utilizadas para a acomodação e transporte das folhas não devem ficar em contato com o solo para evitar o transporte de sujeira até a área de processamento, evitando assim a contaminação por patógenos presentes no solo (MORETTI, 2007).

2.5.1.2 Resfriamento

Após a colheita, por causa da respiração, a folha de couve murcha rapidamente durante o transporte do local de colheita até o local de processamento (AMARANTE, 1991). Em paralelo o estresse resultante da colheita aumenta temporariamente o metabolismo. Por este motivo é indicado que o processamento aconteça depois da estabilização da taxa de respiração. Para reidratar a folha e retirar o calor do campo as folhas devem passar por resfriamento rápido ou hidroresfriamento, as folhas devem ser colocadas em recipientes que permitam que o pecíolo fique imerso em água e assim devem ser armazenadas em câmara fria de 5° C a 2° C, por quatro a oito horas (CARNELOSSI, 2000; MORETTI, 2007).

2.5.1.3 Seleção, classificação e lavagem

Durante esta etapa são eliminados materiais impróprios para o consumo e retirados os talos. As folhas de couve devem ser pré-selecionadas pelos atributos de tamanho, aparência e integridade a fim de facilitar o processamento. As folhas devem ser lavadas por imersão em tanques de borbulhamento, com água corrente de boa qualidade para retirar todas as sujidades da folha (MORETTI, 2007).

2.5.1.4 Corte

O corte aumenta a taxa respiratória da folha de couve aproximadamente duas vezes o que indica que o estresse do corte tem efeito importante sobre o metabolismo do produto picado (CARNELOSSI, 2000), o aumento da taxa respiratória é uma resposta hormonal e bioquímica devido ao corte. Isso ocorre pois o primeiro alvo desse estresse é a membrana plasmática, que responde com mudanças em suas características físicas, de forma a contornar tais perturbações e tentar reparar os danos causados durante o processamento (WATADA et al., 1990, SAKR et al., 1997).

Segundo Brecht (1999), a temperatura é o principal fator causador de injúrias durante o corte, o que pode reduzir a vida de prateleira do produto minimamente processado. É recomendado o estrito controle da temperatura em toda a cadeia, mantendo-se em torno de 15° C para minimizar danos e evitar o crescimento microbológico (MORETTI; CANTWELL, 2000).

2.5.1.5 Sanitização e enxágue

O cloro é um sanitizante amplamente utilizado na indústria de alimentos, pois apresenta vantagens de custo e eficiência (PORTO, 2001). Promove a destruição da cápsula bacteriana de proteção e oxidação do protoplasma celular exercendo a sua ação sanitizante também formando cloraminas tóxicas que alteram a permeabilidade celular e impedem a regeneração enzimática. É um dos sanitizantes mais baratos disponíveis no mercado, eficaz em diferentes concentrações e de fácil preparo e aplicação, porém altamente corrosivo, danificam juntas de peças de borrachas e reagem com matéria orgânica, podendo irritar a pele, mucosa e vias respiratórias dos manipuladores (EVANGELISTA, 2000).

De acordo com Simons e Sanguansri (1997) A sanitização no processamento mínimo da couve deve ser feita com imersão em água resfriada a 5°C, com gelo, adicionada de cloro ativo a 150 mg/L a fim de reduzir a carga microbiana por cerca de 10 minutos. Em seguida deve ser enxaguada em água resfriada a 5°C, contendo 3 mg/L de cloro ativo, para a retirada do excesso de sanitizante (MORETTI, 2007).

É importante o controle efetivo da concentração do cloro pois, pode levar a formação de subprodutos como os trihalometanos e os ácidos haloacéticos que podem trazer diversos malefícios à saúde (QUIRÓS, 2005).

2.5.1.6 Centrifugação

Segundo Moretti (2007) A etapa de centrifugação é necessária para retirada do excesso de água acumulada durante a lavagem e sanitização. Pode ser feito em centrífugas domésticas ou industriais, que trabalham com maior rotação. O tempo de centrifugação ideal para retirada da água e do fluido celular deve ser determinado de acordo com cada situação por meio da variação de tempo (4, 6, 8, 10, 12 e 14 minutos) dependendo da quantidade de produto a ser centrifugado, em testes chegou-se a um tempo médio de 10 minutos para fazer a retirada da água sem extrair excesso de suco celular. A composição química do líquido gerado pode sofrer alterações de acordo com as variáveis empregadas durante esta etapa do processamento (CARNELOSSI, 2000; MORETTI, 2007).

2.5.1.7 Embalagem

O uso de polímeros que restringem a perda de água é de vital importância para a manutenção da qualidade da couve minimamente processada, mesmo que ela esteja acondicionada sob baixa temperatura. Por ser extremamente sensível à desidratação a couve minimamente processada depende de uma embalagem que restrinja a perda de água e que ao mesmo tempo permita trocas gasosas de oxigênio e gás carbônico (MORETTI, 2007). Segundo Rocha (2005) embalagens transparentes perfuradas se mostraram como melhor opção para conservação de couve manteiga minimamente processada.

2.5.1.8 Armazenamento

A temperatura ideal de armazenamento da couve minimamente processada é de 5°C, levando em consideração o custo/benefício. A temperatura de 1°C prolonga em alguns dias o tempo de prateleira e a temperatura de 10°C reduz em 50% o tempo de prateleira, limitando a comercialização e propiciando o crescimento de microrganismos. A couve minimamente processada normalmente é distribuída e comercializada em pacotes de 250 gramas a 300 gramas, dispostos em balcões refrigerados com temperatura de 1°C a 5°C. A utilização de camadas de gelo não é recomendada visto a diferença de temperatura entre as partes superiores e inferiores das embalagens, as variações de temperatura causam condensação de vapor d'água na superfície interna da embalagem, o que dificulta a visualização do produto. (MORETTI, 2007).

2.6 Qualidade microbiológica

De acordo com Babic e Watada (1996) a maior preocupação sobre a segurança microbiológica dos alimentos minimamente processados é a possibilidade de inocular microrganismos patógenos humanos da superfície do alimento para o seu interior, dispondo assim de condições ótimas para o seu crescimento. Microrganismos como *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, e *Listeria monocytogenes* podem crescer em produtos minimamente processados (BALDWIN et al., 2005). No Brasil, a Resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde, dispõe sobre os padrões microbiológicos sanitários para alimentos. Entretanto nesta resolução não existem padrões específicos para as frutas e hortaliças minimamente processadas. Sendo assim, os minimamente podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: "alimentos frescos, 'in natura', preparados (descascados ou selecionados ou fracionados), sanitizados, refrigerados ou congelados, para consumo direto". Para estes alimentos são obrigatórias as análises de *salmonella* e *coliformes* (BRASIL, 2001).

2.7 Aproveitamento de resíduos agroindustriais.

A fome e o desperdício de alimentos é um dos maiores paradoxos que o Brasil enfrenta. Devido ao hábito alimentar dos brasileiros, cascas de frutas, folhas e talos de hortaliças são jogados no lixo, porém, grande parte da população não tem conhecimento que estes alimentos podem conter nutrientes como vitaminas, carboidratos, proteínas e fibras em quantidades superiores à da polpa do alimento e que podem ser aproveitados, diminuindo assim o custo com alimentação e em contrapartida melhorando a qualidade nutricional do cardápio e a reduzindo a alta taxa de o desperdícios (GODIM, 2009).

As agroindústrias de alimentos vegetais, em especial as produtoras de vegetais minimamente processados, geram subprodutos e resíduos (FERREIRA, 2010). Segundo o Decreto nº 6268 de 22 de novembro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento - MAPA, subproduto é o que resulta do processamento, da industrialização ou do beneficiamento econômico de um produto vegetal, enquanto que resíduos de valor econômico são o remanescente da utilização de produtos vegetais ou subprodutos e que possuem características de aproveitamento econômico (BRASIL, 2007).

O desperdício na cadeia alimentar tem diversas causas, como econômicas, políticas, culturais e tecnológicas as quais abrangem as principais etapas da cadeia de movimentação: produção, transporte, comercialização, sistema de embalagem e armazenamento (CASTRO, 2002). Visto essa realidade, há uma grande preocupação na indústria de alimentos, que produz grande volume de resíduos resultantes da produção, encontrar maneiras de fazer a utilização e destinação desses resíduos (MORETTI, 2007).

Na tecnologia de alimentos, dentre outras técnicas, a produção de doces e geleias se tornou uma alternativa importante para a conservação de matérias-primas, pois reduz o problema dos excedentes da safra, aumenta vida útil desses produtos, garante que certas frutas, que estão fora do período da safra, sejam consumidas e disponibilizadas a regiões não produtoras (SANTANA; OLIVEIRA, 2009). De um modo geral os resíduos gerados no processamento de vegetais contêm quantidade considerável de nutrientes o que torna viável sua recuperação e uso (LAUFENBERG, 2003; MOURE et al., 2001; SCHIEBER et al., 2001).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Utilizar o resíduo do processamento mínimo da couve na formulação de um produto tecnológico, bem como, realizar avaliação físico-química, microbiológica e atividade antioxidante total deste resíduo, comparando duas cultivares couve-Manteiga e Hi-Crop.

3.2 Objetivos específicos

- Formular uma bebida a partir do resíduo do processamento mínimo da couve;
- Determinar umidade, sólidos solúveis, acidez titulável total, pH e cloro residual nos resíduos;
- Realizar análise microbiológica para detectar presença de coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus aureus* nos resíduos;
- Verificar atividade antioxidante total.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi dividido em 2 experimentos a seguir:

4.1 Experimento 1 - Produto Tecnológico

4.1.1 Materiais

O produto tecnológico escolhido foi a elaboração de uma bebida. Os materiais foram adquiridos no comércio da rede varejista do Distrito Federal sendo:

1 maço de couve manteiga, 3 unidades de 350 mL de suco de maçã integral, 1 dúzia de limões Taiti e uma raiz de gengibre de aproximadamente 100g.

O material foi acondicionado em sacolas plásticas e conduzido à Unidade de Processamento IV no Instituto Federal de Educação de Brasília – *Campus* Gama, tendo sido acondicionadas sob refrigeração até o momento do início do experimento.

4.1.2 Métodos

Para a produção da bebida, foi produzida inicialmente uma solução de 20% de couve, 200g de couve picada foi adicionado a um liquidificador com 300 mL de água e triturado, em seguida a solução foi coada com o auxílio de uma peneira com malha 18. O conteúdo resultante foi adicionado a uma proveta e completado com água filtrada até 1.000 mL. A proporção utilizada teve a intenção de ser aproximada ao resíduo da centrifugação do processamento mínimo de couve. O suco de limão foi extraído por meio de um espremedor manual em seguida coado em peneira de malha 18, em seguida acondicionado em um béquer de 50 mL. O suco do gengibre foi extraído com um espremedor de alho, não houve a necessidade de coar, em seguida foi acondicionado em um béquer de 30 mL.

Foram propostas 3 formulações com 25%, 50% e 75% do líquido resultante da couve variando a proporção do suco de maçã em função da concentração do mesmo, fixou-se o percentual de suco de limão e suco de gengibre, conforme Tabela 1. Para tal formulação foram levados em consideração os atributos de cor e textura.

Tabela 1 - Formulações da bebida mista de couve, maçã, limão e gengibre.

Formulações	Quantidade dos componentes nas diferentes formulações (% v/v)			
	Líquido de couve	Suco de maçã	Suco de limão	Suco de gengibre
Formulação 1	25	70	4	1
Formulação 2	50	45	4	1
Formulação 3	75	20	4	1

4.2 Experimento 2 - Análises

4.2.1 Materiais

Os resíduos de couve-manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*) e da couve híbrida Hi-Crop foram obtidos em uma agroindústria na região de Brazlândia /DF.

Logo após a etapa de centrifugação da couve minimamente processada o material foi acondicionado em potes de vidro de 400 mL com tampa metálica, em seguida os recipientes foram revestidos com papel alumínio, garantindo que não houvesse passagem de luz, imediatamente foram acondicionados em uma bolsa térmica, sendo conduzidas ao Laboratório de Pesquisa e Extensão no Instituto Federal de Educação de Brasília – *Campus* Gama, tendo sido mantidas em lugar seco e ao abrigo de luz e à temperatura de refrigeração a $10^{\circ}\text{C} \pm 3$.

4.2.2 Métodos

Avaliação físico-química, microbiológica, antioxidante total e cloro residual dos resíduos foram designados: couve-manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*) amostra M (Figura 5) e da couve híbrida Hi-Crop, amostra H (Figura 6).

Figura 5: Couve manteiga



Fonte: Fotos do autor

Figura 6: Couve Hi-Crop



. Fonte: Fotos do autor.

4.2.2.1 Avaliação Físico-química

4.2.2.1.1 Teor de umidade

Foram identificadas com 6 cápsulas de porcelana como M1, M2, M3, H1, H2 e H3, em seguida essas cápsulas foram inseridas em uma estufa previamente aquecida a 105°C por 30 minutos, depois foram pipetados 5 mL da amostra M nas cápsulas M1, M2 e M3 e 5 mL da amostra H nas cápsulas H1, H2 e H3. O material foi novamente encaminhado à estufa e a cada 30 minutos foi feita a aferição dos pesos até que se mantivessem constantes, segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz – IAL (2008), conforme Figura 7.

Cálculo:

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{umidade ou substâncias voláteis a } 105^{\circ}\text{C}$$

Onde:

N = nº de gramas de umidade (perda de massa em g)

P = nº de gramas da amostra

Figura 7: Análise do teor de umidade



Fonte: Fotos do autor.

4.2.2.1.2 Teor de sólidos solúveis

Para a medição do teor de sólidos solúveis, foi utilizado um refratômetro digital portátil HI 96801 da marca HANNA. O método permitiu a aferição dos sólidos solúveis presentes nas amostras. Com auxílio de uma pipeta de Pasteur, foi adicionada uma gota de água deionizada tamponada sobre o prisma, em seguida pressionado o botão “zero” para efetuar a calibragem do equipamento. A água foi retirada do prisma e em seguida foi adicionada 1 gota da amostra no prisma e acionado o botão de “read”, logo após o equipamento forneceu o valor de sólidos solúveis em °Brix conforme Figura 8.

Figura 8: Análise do teor de sólidos solúveis



Fonte: Fotos do autor.

4.2.2.1.3 Acidez titulável total

Em um Herlenmeyer de 100 mL foram adicionados 20 mL da amostra M, adicionados de 0,3 mL de solução de fenolftaleína e completados com água deionizada 100 mL de solução (Figura 9). Por meio de uma bureta de 25 mL foi titulado solução de hidróxido de sódio previamente padronizada sob agitação constante até que a cor rósea persistisse por 30 segundos, o procedimento foi repetido na íntegra para a amostra H (IAL, 2008).

Cálculo:

$$\frac{V \times f \times M \times 100}{P} = \text{acidez em mL de solução de M por cento de v/v}$$

Onde:

V = nº de mL da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

P = volume pipetado em mL

M= molaridade da solução de hidróxido de sódio.

Fonte: Fotos do autor.

Figura 9: Análise de acidez titulável total



4.2.2.1.4 Determinação do pH

Foram adicionados 50 mL da amostra M em um béquer, e agitado até que se obtivesse uniformidade na solução. Em seguida o béquer foi levado ao pHmetro

digital modelo AT-355 fabricado pela ALFAKIT (Figura 10), previamente calibrado conforme manual de utilização e então foi realizada a leitura de acordo com as instruções do fabricante. O procedimento foi repetido para a amostra H (IAL, 2008).

Figura 10: Análise de determinação do pH

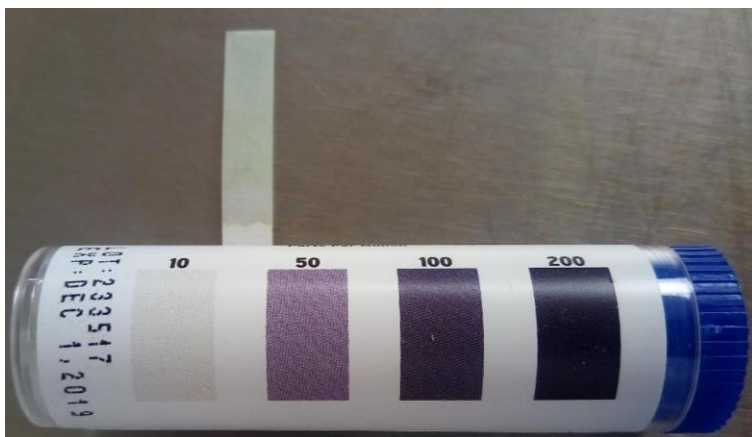


Fonte: Fotos do autor.

4.2.2.1.5 Cloro residual

Para a análise de cloro livre foi utilizado o teste Paper Chlorine Ecolab. (Figura 11) No momento da coleta das amostras na indústria, foi inserido uma fita no material por 1 segundo e depois de 30 segundos a fita foi comparada com a tabela de cores para determinar a concentração de cloro, conforme manual de instruções do fabricante (PRECISION, 2019).

Figura 11: Análise de cloro residual



Fonte: Fotos do autor.

4.2.2.2 Avaliação microbiológica

4.2.2.2.1 Análise de coliformes totais e termotolerantes

Foram coletados 400mL de cada amostra e para a realização da análise foi retirado 25 mL e transferidos para 225 mL de água peptonada tamponada, ficando incubada a 35°-37°C/24h. A partir desta, foram preparadas três diluições de 10^{-1} até 10^{-3} . As amostras foram inoculadas em tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em triplicata de cada diluição, sendo 1 mL de cada diluição para 10 mL de caldo em cada tubo. Os tubos foram incubados a 35°-37°C/24-48h. A partir dos tubos de LST que apresentaram produção de gás, foi transferida 1 mL para os tubos com Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e Caldo *Escherichia coli* (EC). Os tubos de VB seguiram para incubação a 35°-37°C/24-48h, e os tubos de EC seguiram para incubação a 44°-45°C/24-48h. Após o tempo de incubação, os tubos de VB com crescimento e formação de gás foram confirmativos para a presença de coliformes totais (SILVA et al., 2010).

Para a contagem de *Escherichia coli* spp., de cada tubo de Caldo EC com produção de gás foi retirada uma alçada, a qual foi estriada em placas de meio Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB). As placas seguiram para incubação a 37°C/24-48h (SILVA et al., 2010), conforme Figura 12 abaixo.

Figura 12: Análise de coliformes totais e termotolerantes



Fonte: Fotos do autor.

4.2.2.2.2 Análise de *Staphylococcus coagulase positiva*

As amostras, após diluições até 10^{-3} , foram inoculadas na superfície de placas de Ágar Baird-Parker (BP), previamente preparadas e solidificadas conforme Figura 13. Foi espalhado 0,2 mL de inóculo com alça de Drigalski, das placas de maior diluição (10^{-3}) para as placas de menor diluição (10^{-1}), até que todo o excesso fosse absorvido. As placas seguiram para incubação a 35°C - 37°C /45-48h, invertidas em B.O.D (SILVA et al., 2010).

Fonte: Fotos do autor.

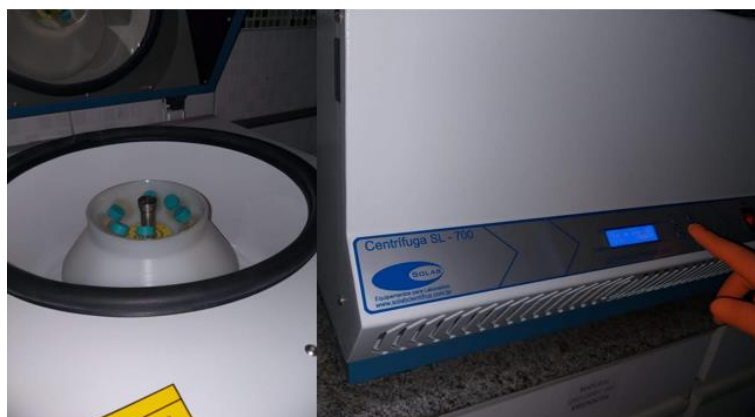
Figura 13: Análise de *Staphylococcus coagulase* positiva



4.2.2.3 Análise de atividade antioxidante total

Para a análise da atividade antioxidante total pelo método fosfomolibdênio foram adicionados 4 mL da amostra em um béquer e com uma proveta foram transferidos 70 mL de água deionizada tamponada para o béquer. A solução foi homogeneizada e transferida para um balão volumétrico de 100 mL, e completado o volume do balão até o menisco com água deionizada tamponada. A solução foi homogeneizada e transferida para o tubo Falcon, em seguida centrifugado a 2000 RPM por 8 minutos conforme Figura 14. Para o preparo da reação foram adicionados aos tubos branco e amostra, previamente protegidos da luz com papel alumínio 0,5 mL de solução de fosfato de sódio a uma concentração de 28,2 mM, em seguida foram adicionados aos tubos branco e amostra, 0,5 mL de solução de mobiliado de amônio a uma concentração de 39,99 mM, logo após adicionado ao tubo branco 4 mL de água destilada e ao tubo de amostra 3,5 mL de água destilada, 0,5 mL do sobrenadante contido no tubo Falcon em seguir homogeneizados. Os tubos foram para estufa a 100 °C por 30 minutos e após estabilizarem em temperatura ambiente foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 695 nm. E para fins de equação considerada a equação da reta da curva padrão de ácido ascórbico (Adaptado de PIETRO, 1999.)

Figura 14: Análise de atividade antioxidante total



Fonte: Fotos do autor.

4.2.2.4 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido com delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos (espécies de couve). As amostras foram analisadas em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Experimento 1 - Produto tecnológico

O percentual de resíduo utilizado formulação inicial da bebida tecnológica foi obtida a partir dos valores encontrados na literatura. Gomes et al. (2019) utilizou na formulação de um blend de abacaxi, couve, cenoura e mel 10% de polpa integral couve, enquanto Souza (2016) utilizou 5% na formulação de um suco misto a base de acerola, limão, mamão, couve e hortelã.

A definição dos outros ingredientes da surgiram após pesquisa por produtos similares, foi verificado grande parte dos produtos similares faziam uso do suco de maçã como uma forma de adoçante natural visto o seu alto teor de sólidos solúveis, com média de 16 °Brix conforme Jorge (1998), além da propriedade de conferir cor ao produto. O limão Taiti foi utilizado na formulação pela sua característica de acidez, podendo baixar o pH da bebida dificultando a proliferação de microrganismos, além do fato de ser rico em ácido ascórbico, que é um conservante natural e conter altos teores de compostos fenólicos e carotenóides, substâncias antioxidantes (DUIZZIONI et al., 2010). O gengibre foi adicionado à formulação pelos seus atributos sensoriais de sabor e odor característicos, além de suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (BALIGA, 2011).

As 3 formulações foram avaliadas visualmente quanto à cor e textura. Para todas as formulações foram mantidas as proporções de 4% de limão e 1% de gengibre.

A primeira formulação com 25% de líquido de couve e 70% de suco de maçã ficou com uma textura bastante viscosa, atrativa visualmente e com cor bastante amarelada sem apresentar visualmente a aparência verde da couve. A segunda formulação com 50% líquido de couve e 45% de suco de maçã apresentou uma textura viscosa, atrativa visualmente e com a cor equilibrada entre o verde da couve e o amarelo do suco de maçã. A terceira formulação apresentou uma textura menos viscosa e a cor verde mais intensa. Levando em consideração a melhor relação cor x textura a formulação 2 foi escolhida.

5.2 Experimento 2

5.2.1 Avaliação Físico-química

5.2.1.1 Teor de umidade

Os percentuais de umidade médios encontrados durante o experimento na amostra M e na amostra H foram $98,46\% \pm 0,09$ e $98,24\% \pm 0,17$ respectivamente, conforme Tabela 2

Tabela 2- Percentuais de umidade para amostras de resíduo da centrifugação da couve minimamente processada.

Triplicatas	Amostras	
	Couve manteiga (M)	HI-Crop (H)
1	98,52	98,26
2	98,44	98,12
3	98,43	98,42

Feiber e Caetano (2013) durante experimento para determinação de contagem centesimal da couve, encontraram $98,4\% \pm 0,22$ de umidade em uma bebida contendo 16% de polpa de couve e 84% de água. Sendo assim, infere-se que seja aproximadamente este o percentual de suco celular de couve dissolvido em água no resíduo agroindustrial estudado.

5.2.1.2 Teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis determinado no experimento foi de $2,1 \pm 0,10$ amostra M e $2,37 \pm 0,15$ amostra H expressos em °Brix. (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores de sólidos solúveis expressos em graus Brix para amostras de resíduo da centrifugação da couve minimamente processada.

Triplícatas	Amostras	
	Couve manteiga (M)	HI-Crop (H)
1	2,0	2,4
2	2,1	2,5
3	2,2	2,2

Sanches et al. (2016) encontraram 7,8 °Brix em seu experimento avaliando armazenamento pós colheita da folha de couve, Carnelossi et al. (2002) encontraram valores similares avaliando folhas de couve minimamente processadas. Se levado em consideração a proporção de 16% citada acima, percentual de sólidos solúveis das amostras analisadas seria de aproximadamente 79% maior que a da polpa de couve.

5.2.1.3 Acidez titulável total

A acidez titulável encontrada no produto foi de 0,83% v/v $\pm$ 0,12 na amostra M e 0,94% $\pm$ 0,36 na amostra H, conforme Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de acidez titulável expresso em mL gastos de NaOH para os resíduos da centrifugação da couve minimamente processada.

Triplícatas	Amostras	
	Couve manteiga (M)	HI-Crop (H)
1	1,7	2,4
2	1,7	1,9
3	1,9	1,7

Estes valores muito acima dos encontrado por Sanches et al. (2016) que determinou 0,2% v/v e de Furlaneto (2019) que encontrou 0,25% v/v, porém ambos no estudo da polpa da couve.

5.2.1.4 Determinação de pH

O pH determinado no resíduo estudado foi de 6,19 $\pm$ 0,04 para a amostra M e 6,15 $\pm$ 0,07 para amostra H, conforme Tabela 5.

Tabela 5 - Valores de pH para as amostras de resíduo da centrifugação da couve minimamente processada.

Triplícatas	Amostras	
	Couve manteiga (M)	HI-Crop (H)
1	6,23	6,23
2	2,15	6,12
3	6,20	6,11

Os valores são aproximados aos de Furlaneto (2019) que registrou pH de 6,22 a 6,27. Valores menores foram encontrados em pesquisa com couve-folha 'Manteiga' por Sanches et al. (2016), na ocasião citaram pH de 5,2.

5.2.1.5 Cloro residual

A análise de cloro livre foi realizada com utilização de fita reagente seguindo orientações do fabricante. Na verificação das amostras o teor de cloro livre encontrado logo após a geração deste resíduo, foi de 10 mg/L. A cloração usada para a sanitização foi de 150 mg/L. Visto que o hipoclorito de sódio é um produto instável que se volatiliza na presença de luz, calor, dentre outros fatores (DE LUCA,

2006), esperava-se que durante a manipulação do produto essa concentração seria diminuída, mas que fosse suficiente para abaixar a carga microbiana no resíduo.

Um aspecto importante a ser considerado no preparo de soluções para desinfecção de hortifrutigranjeiros é o tempo envolvido no preparo da solução até o momento da sanitização. Se, as soluções foram mantidas à temperatura ambiente por três horas, geralmente, este tempo é curto para a formação de THM (AWWA, 1982).

5.2.2 Avaliação microbiológica

Os resultados das análises microbiológicas apresentaram número mais provável NMP/g maior que 1.100 para coliformes totais e termotolerantes para ambas as amostras, como demonstra a Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados da análise microbiológica para amostras de resíduo da centrifugação da couve minimamente processada.

Amostras	Coliformes totais (NMP/g)	RDC 12	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	RDC 12	<i>S. coagulase</i> positiva
M	>1.100	<500	>1.100	<500	Ausência
H	>1.100	<500	>1.100	<500	Ausência

Os resultados obtidos nas análises de coliformes totais e termotolerantes, indicam que as amostras coletadas apresentam contaminação. As análises para presença de *Escherichia coli* apresentaram no material incubado formação de colônias com aspecto âmbar (Figura 15), com características visuais incompatíveis às da literatura, que tem característica de cor negra com brilho verde metálico conforme Figura 16, indicado a ausência do microrganismo. Não foi determinado a presença de colônias nas placas com Ágar Baird Parker, indicando a ausência de *Staphylococcus coagulase* positiva em todas as amostras.

Figura 15: Ágar Levine Azul de Metileno (L-EMB) colonizado por *Escherichia coli*



Fonte: <https://microbeonline.com/eosin-methylene-blue-emb-agar-composition-uses-colony-characteristics/>

Figura 16: Ágar Levine Azul de Metileno (L-EMB) colonizado pela amostra analisada.



Fonte: Fotos do autor.

5.2.3 Análise de atividade antioxidante total

O método de complexação pelo fosfomolibdênio, descrito por Pietro et al. (1999), foi escolhido para a determinação dos antioxidantes totais, por termos disponíveis os reagentes necessários. Entretanto, durante o experimento os valores encontrados de absorbância deram um resultado igual ao da água pura, indicando que não houve leitura. A explicação para o ocorrido poderá ser diversa, como: o método escolhido pode não ter demonstrado sensibilidade a amostra, reagentes

utilizados não estarem com a devida ação necessária, entre outros. Silva (2018) em solução de 10% couve dissolvida em água destilada, identificou $62,04\% \pm 0,91$ de atividade antioxidante utilizando técnica de leitura do radical livre DPPH.

6. CONCLUSÕES

As análises dos resultados obtidos permitem concluir:

1. A produção de uma bebida com o resíduo estudado se mostra viável, porém se faz imprescindível um tratamento tecnológico prévio;
2. Os materiais estudados apresentaram semelhança quanto a maioria dos parâmetros nas avaliações físico-química, microbiológicas e cloro residual. O resíduo da couve Hi-Crop apresentou uma maior acidez titulável total;
3. Face os valores encontrados nas análises de teores de umidade e de sólidos solúveis, o resíduo apresenta quantidade satisfatória de polpa da couve, o que viabiliza o seu aproveitamento como ingrediente para formulação de produtos tecnológicos;
4. Os resultados das análises microbiológicas demonstraram que o resíduo apresenta contaminação acima do permitido na legislação para coliformes totais, sugerindo realizar estudo de qual tratamento tecnológico mais adequado a ser utilizado para conter a contaminação e permitir sua utilização como ingrediente de uma bebida para consumo humano;
5. Não foi identificada atividade antioxidante nas amostras.

Como considerações sugere-se novos trabalhos de:

1. Realização de análise sensorial da bebida com base nas formulações iniciais sugeridas;
2. A análise de atividade antioxidante deve ser repetida utilizando outros métodos comprovativos;
3. Análises microbiológicas para identificação de outros patógenos como a *Salmonella* ssp.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES-RODRIGUES, Alexandra; SHAO, Andrew. The science behind lutein. **Toxicology letters**, v. 150, n. 1, p. 57-83, abr. 2004.

ALVÍDREZ-MORALES, Alicia *et al.* Tendências na produção de alimentos: Alimentos funcionais. **Revista RESPYN de Saúde Pública e Nutrição**, v. 3, n. 3, jul./set. 2002.

AMAN, Robert *et al.* Isolation of carotenoids from plant materials and dietary supplements by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1074, n. 1-2, p. 99-105, maio 2005.

AMARANTE, Cassandro Vidal Talamini. **Relação entre horário de colheita e senescência em folhas de couve (*Brassica oleracea L. var. acephala*)**. 1991. 65 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

ARTECHE, Irany Eugênia Boff. **Tipificação de produtores, descrição de métodos de processamento mínimo e aspectos bromatológicos de couve (*Brassica oleracea var. acephala L.*) minimamente processada**. 2006. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 2006.

ASHWELL M. **Concepts of Functional Foods**. 2002. Disponível em: <<https://ilsi.eu/publication/concepts-of-functional-foods/>> Acesso em: 11 de nov. de 2019.

AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION-AWWA. Treatment techniques for controlling trihalomethanes in drinking water. Washington, D.C.: 1982.

BABIC, Isabelle; WATADA, Alley E. Microbial populations of fresh-cut spinach leaves affected by controlled atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, n. 2, p. 187-193, nov. 1996.

BAENAS, Nieves *et al.* Selecting sprouts of Brassicaceae for optimum phytochemical composition. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, n. 45, p. 11409-11420, nov. 2012.

BALDWIN, E.A. *et al.* Postharvest quality and safety in fresh-cut vegetables and fruits. 2005 Disponível em: <<https://portal.nifa.usda.gov/web/crisprojectpages/0184833-postharvest-quality-and-safety-in-fresh-cut-vegetables-and-fruits.html>>. Acesso em 10 de out. 2019.

BALIGA, Manjeshwar Shrinath *et al.* Update on the chemopreventive effects of ginger and its Phytochemicals. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 6, p. 499-523, jun. 2011.

BEATTY, S. *et al.* Macular pigment and age related macular degeneration. **The British journal of ophthalmology**, v. 83, n. 7, p. 867-77, jul. 1999.

BEAULIEU, John C. *et al.* Fresh-cut kale: Quality assessment of Portuguese store-supplied product for development of a MAP system. In: International Controlled Atmosphere Research Conference, 7th, 1997, California. **Proceedings....** California: University of California, Davis, 1997, p. 145-151.

BERNHARDT, Simone; SCHLICH, Elmar. Impact of different cooking methods on food quality: Retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 2, p. 327-333, nov. 2006.

BIANCHI, Maria de Lourdes Pires; ANTUNES, Lusânia Maria Gregg. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, maio/ago. 1999.

BONE, Richard A. *et al.* Macular pigment in donor eyes with and without AMD: a case-control study. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 42, n. 1, p. 235-240, jan. 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos, constante do anexo desta portaria. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 de maio de 1999.

BRASIL. Decreto nº 6.268, de 22 de novembro de 2007. Regulamenta a Lei no 9.972, de 25 de maio de 2000, que institui a classificação de produtos vegetais, seus subprodutos e resíduos de valor econômico, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 nov. 2017. Seção 1, p. 24.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p. 45-53, 10 jan. 2001.

BRECHT, J. K. **Postharvest quality and safety in fresh-cut vegetables and fruits**. Cooperative Regional Research Project S-294, 1999.

BROWN, Lisa *et al.* A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men. **The American journal of clinical nutrition**, v. 70, n. 4, p. 517-524, out. 1999.

CAMARGO A. N. *et al.* BEBIDAS NATURAIS DE FRUTAS: PERSPECTIVAS DE MERCADO, COMPONENTES FUNCIONAIS E NUTRICIONAIS. 2007 Disponível em: <<http://seer.tupa.unesp.br/index.php/BIOENG/article/view/22>> Acesso em: 14 nov. 2019.

CANTWELL, F.F.M. Postharvest handling systems: minimally processed fruits and vegetables. In: KADER, A.A. (Ed.). **Postharvest technology of horticultural crops**. 2. ed. Davis: Academy, 1992. p. 277-281.

CARLSEN, Monica H. *et al.* The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. **Nutrition journal**, v. 9, n. 1, p. 3, jan. 2010.

CARNELOSSI, Marcelo Augusto Gutierrez *et al.* Conservação de folhas de couve minimamente processadas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, n. 2, p. 149-155, jul./dez. 2002.

CARNELOSSI, Marcelo Augusto Gutierrez. **Fisiologia pós-colheita de folhas de couve (*Brassica oleracea* cv. *acephala*) minimamente processadas**. 2000. 81 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

CASTRO, M. H. C. A. **Fatores determinantes de desperdício de alimentos no Brasil: Diagnóstico da situação**. 2002. 93 f. Monografia (Especialização em Gestão de Qualidade em Serviços de Alimentação) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2002.

CENKOWSKI, Stefan *et al.* Potential of in-field and low temperature drying for reducing chlorophyll contents in canola (*Brassica napus* L). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 63, n. 4, p. 377-383, 1993.

CHASAN-TABER, Lisa *et al.* A prospective study of carotenoid and vitamin A intakes and risk of cataract extraction in US women. **The American journal of clinical nutrition**, v. 70, n. 4, p. 509-516, out. 1999.

CHERNOMORSKY, Simon *et al.* Effect of dietary chlorophyll derivatives on mutagenesis and tumor cell growth. **Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis**, v. 19, n. 5, p. 313-322, set. 1999.

DAGNELIE, Gislin *et al.* Lutein improves visual function in some patients with retinal degeneration: a pilot study via the Internet. **Optometry (St. Louis, Mo.)**, v. 71, n. 3, p. 147-164, fev. 2000.

DASHWOOD, Roderick H. *et al.* Chemopreventive properties of chlorophylls towards aflatoxin B1: a review of the antimutagenicity and anticarcinogenicity data in rainbow trout. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 399, n. 2, p. 245-253, mar. 1998.

DASHWOOD, Roderick H. The importance of using pure chemicals in (anti) mutagenicity studies: chlorophyllin as a case in point. **Mutation research**, v. 381, n. 2, p. 283, nov. 1997.

DE LUCCA, Lourenço. **Controle de qualidade do hipoclorito de sódio no processo de produção**. Florianópolis: UFSC, 2006.

DELI, Jozsef *et al.* Epimerisation of lutein to 3'-epilutein in processed foods. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 14, n. 4, p. 925-928, fev. 2004.

DUZZIONI, Alexandra Gelsleichter *et al.* Determinação da atividade antioxidante e de constituintes bioativos em frutas cítricas. **Brazilian Journal of Food & Nutrition**, v. 21, n. 4, out./dez. 2010.

EL-AGAMEY, Ali *et al.* Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 430, n. 1, p. 37-48, out. 2004.

EUROPEAN COMMISSION, **COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT, THE COUNCIL, THE EUROPEAN ECONOMIC AND SOCIAL COMMITTEE AND THE COMMITTEE OF THE REGIONS**. 2010. Disponível em: <https://ec.europa.eu/research/innovation-union/pdf/innovation-union-communication_en.pdf> Acesso em 20 de nov. 2019.

EVANGELISTA, José. Tecnologia de Alimentos. São Paulo: Ed. Atheneu, 2000. 652p

FEIBER, Larissa Testoni; CAETANO, Roberta. Estudo da composição centesimal e teores de cálcio em polpas de couve (*Brassica oleracea var. acephala*). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 23, n. 1, p. 141-145, jan./mar. 2013.

FONSECA, Marcos José de Oliveira *et al.* **Processamento mínimo de vegetais**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2009.

FONTANA, José D. *et al.* Carotenóides cores atraentes e ação biológica. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 13, p. 40-45, mar./abr. 2000.

FOTSIS, Theodore *et al.* Flavonoids, dietary-derived inhibitors of cell proliferation and in vitro angiogenesis. **Cancer research**, v. 57, n. 14, p. 2916-2921, jul. 1997.

FRASER, Paul D.; BRAMLEY, Peter M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in lipid research**, v. 43, n. 3, p. 228-265, maio 2004.

FURLANETO, Karina Aparecida. **Higienização e Qualidade da Couve-folha 'Manteiga' Minimamente Processada**. 2019. 79 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2019.

GENTILE, James M.; GENTILE, Glenda J. The metabolic activation of 4-nitro-o-phenylenediamine by chlorophyll-containing plant extracts: The relationship between mutagenicity and antimutagenicity. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 250, n. 1-2, p. 79-86, set./out.1991.

GOMES, Jaqueline de Sousa *et al.* Caracterização físico-química de *blends* composto por abacaxi, cenoura e couve, adoçado com mel. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 13, n. 1, p. 07-12, jan./mar. 2019.

GONDIM, Abnor (Ed.). **Catálogo Brasileiro de Hortaliças**: saiba como plantar e aproveitar 50 das espécies mais comercializadas no país. Brasília: Embrapa Hortaliças/SEBRAE, 2010.

GONDIM, Jussara A. Melo *et al.* Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 825-827, out./dez. 2005.

GROSS, Jeana. **Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 351 p.

Odair Zenebon (org.), Neus Sadocco Pascuet (org.) e Paulo Tiglea (org.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

JORGE, Zaida L. C. Avaliação físico-química e sensorial de suco de maçãs cultivares fuji, granny smith e seus “*blends*”. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 4, n. 1, p. 15-19, Jan./Abr. 1998.

KRINSKY, Norman I. *et al.* Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular aspects of medicine**, v. 26, n. 6, p. 459-516, dez. 2005.

LAI, Chiu-Nan *et al.* Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 77, n. 3, p. 245-250, mar.1980.

LANFER-MARQUEZ, Ursula Maria. O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 3, p. 227-242, jul./set. 2003.

LAUFENBERG, Günther *et al.* Transformation of vegetable waste into value added products::(A) the upgrading concept;(B) practical implementations. **Bioresource technology**, v. 87, n. 2, p. 167-198, abr. 2003.

LIMA, P. C. C.; SOUZA, Bianca Sarzi; OLIVEIRA, D. C. Aproveitamento agroindustrial de resíduos provenientes do abacaxi 'pérola' minimamente processado. **Holos**, v. 2, p. 122-136, maio 2017.

LUENGO, Rita de Fátima Alves *et al.* Tabela de composição nutricional das hortaliças. 2. ed. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2011.

MAISUTHISAKUL, Pitchaon *et al.* Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1409-1418, 2007.

MAZUMDER, Anupriya *et al.* Major food grade pigments from microalgae and their health benefits - A review. **Indian Food Industry Magazine**, v. 33, n. 4, p. 19-30, jul./ago. 2014.

MELO, Raphael Augusto de Castro e *et al.* **Caracterização da produção de couve no Distrito Federal**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2017.

MIGUEL, Ana Carolina Almeida *et al.* Aproveitamento agroindustrial de resíduos sólidos provenientes do melão minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 733-737, jul./set. 2008.

MORAES, Fernanda P. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de farmácia**, v. 3, n. 2, out. 2006.

MORETTI, Celso Luiz (Ed.). Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças. Brasília : Embrapa Hortaliças, 2007.

MORETTI, Celso Luiz *et al.* **Processamento mínimo de couve**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000.

MOURE, Andrés *et al.* Natural antioxidants from residual sources. Food chemistry, v. 72, n. 2, p. 145-171, fev. 2001.

NASCIMENTO, H. M. *et al.* AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE AGENTES SANITIZANTES COMO CONTROLADORES DO CRESCIMENTO MICROBIANO NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA. 2009. Disponível em: <<http://www.unisanta.br/revistaceciliana>> Acesso em 13 nov. 2019

NOVO, Maria do Carmo de Salvo Soares *et al.* **Caracterização morfológica e da coloração de folhas de couve do banco de germoplasma do Instituto Agrônomo de Campinas**. Infobibos, Informação Tecnológica, 2011.

ODIN, Andrew P. Antimutagenicity of the porphyrins and nonenzyme porphyrin-containing proteins. **Mutation Research**, v. 387, n. 1, p. 55-68, ago.1997.

OKAI, Yasuji; HIGASHI-OKAI, Kiyoka. Pheophytin a Is a Potent Suppressor against Genotoxin-Induced umuC Gene Expression in Salmonella typhimurium (TA 1535/pSK 1002). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 74, n. 4, p. 531-535, mar. 1997.

OLIVEIRA, Daniela A. *et al.* Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. **Journal of Biotechnology**, v. 164, n. 3, p. 423-432, abr. 2013.

POOL-ZOBEL, B. L. *et al.* Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. **Carcinogenesis**, v. 18, n. 9, p. 1847-1850, set. 1997.

PORTO, E. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em hortaliças resistência aos sanitizantes e sobrevivência em alface minimamente processada e acondicionada em atmosfera modificada. 2001 187f. **Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)** – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PRECISION, Laboratories. Chlorine Test Paper. Disponível em: <<https://www.preclaboratories.com/product/chlorine-test-paper>>. Acesso em: 10 nov. 2019.

PRIETO, Pilar *et al.* Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 337-341, maio 1999.

QUIRÓS, Francisco Ramírez. Desinfección del agua con cloro y cloraminas. **Técnica industrial**, v. 260, p. 55-63, 2005.

RISO, P. *et al.* Bioavailability of carotenoids from spinach and tomatoes. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 14, n. 3, p. 150-156, jun. 2004.

ROCHA, G. G. Qualidade Microbiológica De Couve Manteiga (Brassica Oleracea) Minimamente Processada Comercializada Em São Paulo, Brasil. Disponível em: <<http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2018/01/RBAC-vol-49-4-2017-ref-563-1.pdf>> Acesso em: 01 Dec. 2019.

ROCHA, Odirley Moraes da *et al.* Conservação de couve manteiga em diferentes embalagens e temperaturas. [S.l: s.n.], 2005.

ROSA, Sérgio Eduardo Silveira da *et al.* Panorama do setor de bebidas no Brasil. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 23, p. 101-149, mar. 2006.

RÜDIGER, W.; SCHOCH, S. Chlorophylls. In: GOODWIN, Trevor Walworth (Ed.). **Chemistry and biochemistry of plant pigments**. London and San Diego: Academic Press, 1988. p. 1-53.

SAKR, Soulaïman *et al.* Cutting, ageing and expression of plant membrane transporters. **Biochemical and Biophysical Acta**, v. 1330, n. 2, p. 207-216, dez. 1997.

SANCHES, Alex Guimarães *et al.* Utilização de radiação gama e amido de milho no armazenamento pós-colheita das folhas de couve manteiga. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 3, n. 4, p. 24-31, out./dez. 2016.

SANTANA, Adriana Figueiredo; OLIVEIRA, Lenice Freiman de. Aproveitamento da casca de melancia (*Curcubita citrullus*, Shrad) na produção artesanal de doces alternativos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 4, p. 363-368, out./dez. 2009.

SCHIEBER, A. *et al.* By-products of plant food processing as a source of functional compounds - recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, n. 11, p. 401-413, nov. 2001.

SCHWARTZ, Steven J.; LORENZO, Tina V. Chlorophylls in foods. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 29, n. 1, p. 1-17, 1990.

SILVA, Carla Sousa *et al.* Alimentos funcionais: uma tendência de mercado. Egítania Scienca, v. 16, p. 107-125, 2015.

SILVA, Luana Cristina Rodrigues da. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extrato aquoso de couve e potencial suplementar em bebida láctea fermentada**. 2018. 43 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, 2018.

SILVA, Marília Lordêlo Cardoso *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-681, jul./set. 2010.

SILVA, Neusely da *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora Blucher, 2017.

SIMONS, L. K.; SANGUANSRI, P. Advances in the washing of minimally processed vegetables. **Food Australia**, v. 49, n. 2, p. 75-80, fev. 1997.

SOUZA, Thabata Miranda. **Desenvolvimento de suco misto à base de acerola, mamão, limão, couve e hortelã**. 2016. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Maranhão, Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia, Imperatriz, 2016.

STAVRIC, B. Antimutagens and anticarcinogens in foods. **Food and chemical toxicology**, v. 32, n. 1, p. 79-90, jan. 1994.

STRINGHETA, P. C. *et al.* Lutein: antioxidant properties and health benefits. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, p. 229-237, abr./jun. 2006.

SUMANTRAN, Venil N. *et al.* Differential regulation of apoptosis in normal versus transformed mammary epithelium by lutein and retinoic acid. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 9, n. 3, p. 257-263, mar. 2000.

TERWEL, Loes; VAN DER HOVEEN, Jan C. M. Antimutagenic activity of some naturally occurring compounds towards cigarette-smoke condensate and benzo [a] pyrene in the Salmonella/microsome assay. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 152, n. 1, p. 1-4, out. 1985.

TRANI, Paula Espíndola *et al.* **Couve de folha: do plantio à colheita**. Campinas: Instituto Agronômico, 2015.

VANETTI, M.C.D. Segurança microbiológica em produtos minimamente processados. In: **ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS**, 3., 2004, Viçosa. **Anais...Viçosa: UFV**, 2004. p. 30-32.

WATADA, Alley E. *et al.* Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Technology**, v. 44, p. 116-122, maio 1990.

WATERS, Michael D. *et al.* Activity profiles of antimutagens: in vitro and in vivo data. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 350, n. 1, p. 109-129, fev. 1996.

WILEY, Robert C.; CARRETERO, José Fernandez-Salguero. **Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 1997.

WOODS, F. M. POSTHARVEST QUALITY AND SAFETY IN FRESH-CUT VEGETABLES AND FRUITS. **AUBURN UNIVERSITY**. 2005. disponível em: <<https://portal.nifa.usda.gov/web/crisprojectpages/0184833-postharvest-quality-and-safety-in-fresh-cut-vegetables-and-fruits.html>> Acesso em: 12 nov. 2019

YEMELYANOV, Alexander Yu *et al.* Ligand-binding characterization of xanthophyll carotenoids to solubilized membrane proteins derived from human retina. **Experimental eye research**, v. 72, n. 4, p. 381-392, abr. 2001.