



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE NORTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO



ROMAYANA MEDEIROS DE OLIVEIRA TAVARES

**EFEITO DO BRANQUEAMENTO E ESTUDO CINÉTICO PARA O  
BENEFICIAMENTO DO FEIJÃO-VERDE [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]**

NATAL/RN

2020

ROMAYANA MEDEIROS DE OLIVEIRA TAVARES

EFEITO DO BRANQUEAMENTO E ESTUDO CINÉTICO PARA O  
BENEFICIAMENTO DO FEIJÃO-VERDE [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial à obtenção de título de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karla Suzanne Florentino da Silva Chaves Damasceno.  
Coorientador: Prof. Dr. Roberto Rodrigues Cunha Lima.

NATAL/RN

2020

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Sistema de Bibliotecas - SISBI  
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro Ciências da Saúde - CCS

Tavares, Romayana Medeiros de Oliveira.

Efeito do branqueamento e estudo cinético para o beneficiamento do feijão-verde (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) / Romayana Medeiros de Oliveira Tavares. - 2020.  
106f.: il.

Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Natal, RN, 2020.  
Orientadora: Karla Suzanne Florentino da Silva Chaves Damasceno.  
Coorientador: Roberto Rodrigues Cunha Lima.

1. Vigna - Tratamento térmico - Dissertação. 2. Feijão-verde - Dissertação. 3. Peroxidase - Dissertação. 4. Controle de qualidade - Dissertação. I. Damasceno, Karla Suzanne Florentino da Silva Chaves. II. Lima, Roberto Rodrigues Cunha. III. Título.

RN/UF/BS-CCS

CDU 635.654

ROMAYANA MEDEIROS DE OLIVEIRA TAVARES

EFEITO DO BRANQUEAMENTO E ESTUDO CINÉTICO PARA O  
BENEFICIAMENTO DO FEIJÃO-VERDE [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Aprovado em 21 de Outubro de 2020.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karine Cavalcanti Maurício de Sena Evangelista  
Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Nutrição  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karla Suzanne Florentino da Silva Chaves Damasceno.  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Orientadora

Prof. Dr. Roberto Rodrigues Cunha Lima  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte - IFRN  
Campus Natal - Zona Norte  
Coorientador

Prof. Dr. Francisco Canindé de Sousa Junior  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Membro Interno

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lindomar Maria da Silveira  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA  
Membro Externo

*Dedico este trabalho a minha amada  
família, por todo apoio, amor e incentivo.  
Em especial aos meus filhos Marcos Filho  
e Martim, meu esposo, meus pais, minhas  
irmãs, sogros e sobrinhos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu bom Deus, por guiar os meus passos, me fortalecer durante essa caminhada acadêmica e por ter colocado em meu caminho todas as pessoas que aqui agradeço. A Nossa Senhora por todas as intercessões e por me conceder calma e serenidade.

Aos meus filhos, Marcos Paulo Filho e Martim e ao meu esposo Marcos Paulo pelo amor, compreensão em tantos momentos de ausência, pelo apoio incondicional e cumplicidade.

Aos meus pais, Judson e Aparecida, minhas irmãs Pollyana e Jullyana e meu cunhado Flávio, por serem o meu porto seguro em todos os momentos que preciso, por cuidar com tanto amor de Marcos Filho, por todo incentivo, amor e por torcerem sempre pelas minhas conquistas e acreditarem nos meus sonhos. Aos meus sobrinhos e afilhadas, por nos conceder tanto amor e felicidades.

Aos meus sogros, meus cunhados e concunhadas por todo apoio, incentivo e cuidado com Marcos Filho. À toda minha família e amigos pelo incentivo e carinho ao longo desta caminhada, em especial aos meus padrinhos Paulo e Raida e minhas avós Rita e Hermogena (*In memoriam*).

À minha querida orientadora, Professora Karla Suzanne, meus sinceros agradecimentos pelos ensinamentos, incentivo, esforços, dedicação e paciência. Uma profissional ética e exigente, mas que acima de tudo é um ser humano de coração lindo. Se existe uma frase que define sua conduta profissional como educadora é essa: “Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana” (Carl Jung). Sem dúvidas, essa conquista é nossa. Muito obrigada pelas noites em claro e horas infindas de leitura e orientação.

Ao professor Roberto Lima, por conduzir de forma tão tranquila e sábia a coorientação desta pesquisa. Sou grata por todos os esforços e ensinamentos.

Agradeço a Professora Cristiane de Assis, por toda acolhida e ensinamentos no Laboratório de Bromatologia. Agradeço a Paulo Douglas, por toda contribuição, paciência e ensinamentos para o tratamento dos dados cinéticos da pesquisa. Agradeço aos professores, Francisco Sousa Júnior, Saulo Capim e Lindomar Silveira, pelas brilhantes contribuições para correção desse trabalho.

Aos servidores e colaboradores do Departamento de Nutrição, meus colegas de trabalho, por todo incentivo e apoio. De forma especial, agradeço a Rogério César e Maria das Graças por compreender as minhas ausências no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e por toda contribuição. A Julieth, Jessica e Erika que me deram todo suporte nos laboratórios e que não mediram esforços para me ajudarem no andamento da pesquisa. A Maria Farias, pela amizade e incentivo.

Agradeço a todos os professores, técnicos, assistentes e alunos vinculados aos laboratórios que foram fundamentais para realização desta pesquisa: Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Laboratório de Tecnologia de Alimentos e Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição (UFRN); Laboratório de Bromatologia e Laboratório de Tecnologia e Biotecnologia Farmacêutica (TECBIOFAR) do Departamento de Farmácia (UFRN); Laboratório de Análises Instrumentais e Sensoriais de Alimentos e o Laboratório de Fisiologia e Tecnologia de Pós-Colheita sediados na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Aos monitores, alunos de graduação e alunos de Iniciação Científica que tanto contribuíram com a realização das análises e que passaram horas de trabalho dentro dos laboratórios ao meu lado. Ana Beatriz, Ana Carolina, Anne, Camilla, Everi, Fabiana, Felipe, Fernanda, Gabriely, Giovana, Jaqueline, Larissa, Liana, Luana, Lyanara, Maíra, Milka, Pâmara, Tatiane, Thainar, Thayany e Thereza, minha eterna gratidão, sem vocês não seria possível a execução de tantos experimentos.

À Genivan, produtor de feijão-verde que contribuiu para o fornecimento da matéria-prima da pesquisa.

À minha turma do Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGNUT), que vivenciou toda dificuldade para a realização das pesquisas em tempos de pandemia. Meu agradecimento pela convivência, incentivo e carinho. Em especial, agradeço ao meu grupo da linha de Qualidade de Alimentos: Amanda, Neyna, Sara e Sebastião.

Às egressas do PPGNUT, Silvia e Grazielle por serem exemplo de resiliência e dedicação e, por demonstrar todo incentivo e torcida nessa trajetória.

À Universidade Federal do Rio Grande do Norte e ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição pelo ensino de qualidade e por ter possibilitado a realização desta pesquisa. Em especial, agradeço a toda equipe e docentes do PPGNUT.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*“Os sonhos de Deus são maiores que os  
teus. Por isso vale a pena acreditar  
O dia está chegando, Eu vou te renovar  
Na Minha presença tu vais prosperar”.*  
Os Sonhos de Deus - Juninho Black.

## RESUMO

Os grãos de feijão-caupi em grau de maturação verde têm papel importante na economia e nutrição de diversas populações. No entanto, a alta perecibilidade prejudica a comercialização que por vezes pode ser descontinuada. O branqueamento é uma alternativa tecnológica que pode conferir maior durabilidade ao feijão-verde. A presente pesquisa objetiva investigar os efeitos do branqueamento nas características físicas (firmeza, cor e ganho de massa) e atividade enzimática da peroxidase (POD) no feijão-verde; estudar o comportamento cinético destas propriedades e avaliar a vida de prateleira do feijão-verde in natura e branqueado armazenados sob refrigeração (4,90 °C). Foram realizados experimentos com três temperaturas (70, 80 e 90 °C) e seis tempos (1, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos) para analisar os efeitos do branqueamento e a cinética das propriedades estudadas. As alterações físico-químicas, microbiológicas e enzimática (POD), além do monitoramento fotográfico, foram avaliadas ao longo do período de armazenamento sob refrigeração. Foi evidenciada diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) na atividade enzimática após o branqueamento. No entanto, a aplicação de altas temperaturas por longo período causou amolecimento dos grãos, maior ganho de massa e diminuição da tonalidade verde. A dependência da diminuição da atividade enzimática, firmeza e cor com a temperatura apresentaram coeficientes de determinação ( $R^2$ ) que indicaram um ajuste satisfatório dos dados ao modelo cinético de primeira ordem. O estudo dos efeitos e o modelo cinético evidenciaram que a utilização de 70 °C por 4 minutos foi favorável para manutenção e/ou melhoramento das características físicas da matéria-prima. Durante o período de armazenamento sob refrigeração, o pH e a acidez total titulável do feijão-verde branqueado sofreram poucas alterações; a carga microbiológica e a atividade da POD apresentaram redução significativa ( $p < 0,05$ ) com o branqueamento e mantiveram-se estáveis ( $p > 0,05$ ) até o oitavo dia de armazenamento. O branqueamento do feijão-verde a 70 °C por 4 minutos aumentou em 5 dias o armazenamento sob refrigeração quando comparado ao feijão-verde não branqueado. Dessa forma, evidencia-se o branqueamento como alternativa para o beneficiamento da cultivar de feijão-verde, Chico Joaquim, garantindo os atributos de qualidade e de segurança.

**Palavras-chave:** Tratamento térmico; peroxidase; leguminosa; controle de qualidade.

## ABSTRACT

Cowpea green grains have an important role in the economy and nutrition of different populations. However, the high perishability impairs commercialization, which can sometimes be discontinued. Blanching is a technological alternative that can give greater durability to green beans. This research aims to investigate the effects of blanching on physical characteristics (firmness, color, and mass gain) and enzymatic activity of peroxidase (POD) in green beans; to study the kinetic behavior of these properties, and to evaluate the shelf life of fresh and blanched green beans stored under refrigeration (4.90 °C). Experiments were carried out with three temperatures (70, 80, and 90 °C) and six times (1, 2, 4, 6, 8, and 10 minutes) to analyze the blanching effects and the kinetics of the studied properties. The physical-chemical, microbiological, and enzymatic (POD) changes, in addition to photographic monitoring, were evaluated over the period of storage under refrigeration. A significant decrease ( $p < 0.05$ ) in enzymatic activity after blanching was evident. However, the application of high temperatures for a long period caused the grains to soften, increased mass gain, and decreased green hue. The dependence on decreased enzymatic activity, firmness, and color with temperature showed coefficients of determination ( $R^2$ ) that indicated a satisfactory fit of the data to the first-order kinetic model. The study of the effects and the kinetic model showed that the use of 70 °C for 4 minutes was favorable for maintaining and / or improving the physical characteristics of the raw material. During the refrigerated storage period, the pH and the total titratable acidity of the blanched green beans suffered little change; microbiological load and POD activity showed a significant reduction ( $p < 0.05$ ) with bleaching and remained stable ( $p > 0.05$ ) until the eighth day of storage. The bleaching of green beans at 70 °C for 4 minutes increased storage under refrigeration in 5 days when compared to unbleached green beans. Thus, bleaching is highlighted as an alternative for the improvement of the green beans cultivar, Chico Joaquim, guaranteeing the attributes of quality and safety.

**Keywords:** Heat treatment; peroxidase; legume; quality control.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Distribuição das regiões produtoras de feijão-caupi no Brasil.....	21
<b>Figura 2.</b> Efeito do branqueamento no tecido celular vegetal.....	29
<b>Figura 3.</b> Feijão-verde ( <i>Vigna unguiculata</i> L. Walp) in natura, cultivar Chico Joaquim, selecionado segundo os padrões de qualidade estabelecidos.....	33
<b>Figura 4.</b> Fluxograma ilustrativo de processamento para obtenção do feijão-verde branqueado.....	35
<b>Figura 5.</b> Posição dos grãos de feijão-verde para análise instrumental da firmeza.....	38
<b>Figura 6.</b> Análise instrumental de cor da amostra de feijão-verde com espectrofotômetro portátil.....	39
<b>Figura 7.</b> Fluxograma do delineamento experimental fase 2.....	42
<b>Figura 8.</b> Atividade enzimática relativa da peroxidase em diferentes binômios temperatura-tempo após tratamento de branqueamento.....	47
<b>Figura 9.</b> Gráfico de Pareto com estimativa dos efeitos sobre a atividade enzimática relativa (%) nos grãos de feijão-verde submetidos a branqueamento.....	48
<b>Figura 10.</b> Análise da firmeza (N) da amostra controle (feijão-verde in natura) e das amostras de feijão-verde submetidos a 18 ensaios de branqueamento.....	50
<b>Figura 11.</b> Gráfico de Pareto mostrando o efeito da interação das variáveis de temperatura e tempo de branqueamento na firmeza dos grãos de feijão-verde.....	50
<b>Figura 12.</b> Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento no ganho de massa (%) do feijão-verde.....	53
<b>Figura 13.</b> Gráfico de Pareto para estimativa dos efeitos das variáveis de temperatura e tempo de branqueamento sobre o ganho de massa do feijão-verde.....	53
<b>Figura 14.</b> Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento nos índices de cor ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ e croma) do feijão-verde.....	56
<b>Figura 15.</b> Comparação dos índices de cor em grãos de feijão-verde. 1 (feijão-verde in natura) 2 (feijão-verde branqueado a 70 °C-2 min) e 3 (feijão-verde branqueado a 70 °C-4 min).....	57
<b>Figura 16.</b> Gráfico de Pareto para estimativa dos efeitos das variáveis de temperatura e tempo de branqueamento sobre o índice $a^*$ na cor do feijão-verde.....	58
<b>Figura 17.</b> Efeito do branqueamento sob a desnaturação na atividade da peroxidase (U/g) do feijão-verde, em diferentes binômios temperatura-tempo.....	60

<b>Figura 18.</b> Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento do feijão-verde, sob a propriedade de firmeza (N).....	62
<b>Figura 19.</b> Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento do feijão-verde sobre a saturação da cor, segundo o indicador croma.....	64
<b>Figura 20.</b> Comportamento do potencial hidrogeniônico (pH) no feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB) a 70 °C por 4 min, durante o período de armazenamento sob refrigeração a 4,90 °C (0,32).....	67
<b>Figura 21.</b> Variação da Acidez Total Titulável (ATT) em % de ácido cítrico p/v, no feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB), armazenado sob refrigeração a 4,90 °C (0,32).....	69
<b>Figura 22.</b> Efeito do armazenamento sob refrigeração [4,90 °C (0,32)] na contagem de bactérias mesófilas (Log UFC/g) das amostras de feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).....	71
<b>Figura 23.</b> Efeito do armazenamento sob refrigeração [4,90 °C (0,32)] na contagem de bactérias psicotróficas (Log UFC/g) das amostras de feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).....	73
<b>Figura 24.</b> Atividade da peroxidase (U/g) em feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB) a 70 °C por 4 min, durante o período de armazenamento em refrigeração a 4,90 °C (0,32).....	75
<b>Figura 25.</b> Monitoramento fotográfico do estágio de senescência do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB), armazenado sob refrigeração.....	79

## LISTA DE APÊNDICES

<b>APÊNDICE A.</b> Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento sobre a atividade enzimática relativa (AER %) da peroxidase do feijão-verde.....	95
<b>APÊNDICE B.</b> Gráfico de interações da temperatura e tempo sobre a atividade enzimática relativa (AER %) da peroxidase do feijão-verde, submetidos ao tratamento de branqueamento.....	96
<b>APÊNDICE C.</b> Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento na propriedade de firmeza do feijão-verde.....	97
<b>APÊNDICE D.</b> Gráfico de interações da temperatura e tempo sobre a firmeza do feijão-verde, submetidos ao tratamento de branqueamento.....	98
<b>APÊNDICE E.</b> Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento sobre o ganho de massa (%) do feijão-verde.....	99
<b>APÊNDICE F.</b> Correlação de Pearson entre o parâmetro de ganho de massa e firmeza dos grãos de feijão-verde, submetidos ao branqueamento.....	100
<b>APÊNDICE G.</b> Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento sobre a cor do feijão-verde.....	101
<b>APÊNDICE H.</b> Parâmetros físico-químicos de potencial hidrogeniônico (pH) e acidez titulável durante o período de armazenamento sob refrigeração do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).....	102
<b>APÊNDICE I.</b> Alterações microbiológicas durante o período de armazenamento em refrigeração do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).....	103
<b>APÊNDICE J.</b> Efeito do branqueamento na atividade enzimática da peroxidase (U/g) durante o período de armazenamento sob refrigeração do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).....	104

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	19
2.1 OBJETIVO GERAL.....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	20
3.1 FEIJÃO-CAUPI ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) .....	20
<b>3.1.1 Grão em maturação verde (feijão-verde)</b> .....	21
<b>3.1.2 Aspectos nutricionais do feijão-verde</b> .....	23
3.2 ENZIMAS POLIFENOLOXIDASE E PEROXIDASE.....	25
<b>3.2.1 Atividade enzimática e deterioração da qualidade de alimentos</b> .....	26
3.3 BRANQUEAMENTO DE ALIMENTOS.....	27
<b>3.3.1 Cinética de branqueamento</b> .....	30
<b>3.3.2 Viabilidade econômica da técnica de branqueamento</b> .....	31
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	32
4.1 MATÉRIA-PRIMA.....	32
4.2 FASE 1 - ESTUDO DOS EFEITOS DO BRANQUEAMENTO NO FEIJÃO-VERDE E AVALIAÇÃO CINÉTICA DAS VARIÁVEIS ATIVIDADE ENZIMÁTICA, FIRMEZA E COR.....	33
<b>4.2.1 Processo de branqueamento</b> .....	33
<b>4.2.2 Ensaio enzimático</b> .....	36
4.2.2.1 Preparação do extrato enzimático bruto.....	36
4.2.2.2 Determinação da atividade enzimática.....	36
<b>4.2.3 Análise instrumental da firmeza</b> .....	37
<b>4.2.4 Ganho de massa após o processo de branqueamento</b> .....	38
<b>4.2.5 Análise instrumental da cor</b> .....	38
<b>4.2.6 Padrões matemáticos para análises cinéticas</b> .....	39
<b>4.2.7 Definição das condições ideais de branqueamento</b> .....	40
<b>4.2.8 Análise estatística</b> .....	40
4.3 FASE 2 – DETERMINAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA DO PRODUTO ARMAZENADO SOB REFRIGERAÇÃO.....	41

<b>4.3.1 Matéria-prima</b> .....	41
<b>4.3.2 Delineamento experimental</b> .....	41
<b>4.3.3 Caracterização físico-química</b> .....	42
<b>4.3.4 Análise microbiológica</b> .....	43
4.3.4.1 Preparo das amostras e das diluições.....	43
4.3.4.2 Métodos e padrões microbiológicos.....	43
<b>4.3.5 Determinação da atividade enzimática</b> .....	44
<b>4.3.6 Monitoramento fotográfico das amostras armazenadas sob refrigeração</b> .....	44
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	46
5.1 FASE 1 - ESTUDO DOS EFEITOS DO BRANQUEAMENTO NO FEIJÃO-VERDE E AVALIAÇÃO CINÉTICA DAS VARIÁVEIS ATIVIDADE ENZIMÁTICA, FIRMEZA E COR.....	46
<b>5.1.1 Efeito do branqueamento na atividade da peroxidase</b> .....	46
<b>5.1.2 Propriedade de firmeza</b> .....	49
<b>5.1.3 Efeito no ganho de massa após o tratamento de branqueamento dos grãos</b> .....	52
<b>5.1.4 Efeito do branqueamento na propriedade de cor do feijão-verde</b> .....	55
<b>5.1.5 Estudo cinético</b> .....	59
5.1.5.1 Estudo dos parâmetros cinéticos na atividade enzimática da peroxidase (POD) do feijão-verde, após processo de branqueamento.....	59
5.1.5.2 Análise cinética do efeito do branqueamento na firmeza.....	61
5.1.5.3 Avaliação dos parâmetros cinéticos na mudança de cor.....	63
<b>5.1.6 Definição das condições ideais de branqueamento</b> .....	65
5.2 FASE 2 – DETERMINAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA DO PRODUTO ARMAZENADO SOB REFRIGERAÇÃO.....	66
<b>5.2.1 Análise físico-química do feijão-verde durante o período de armazenamento sob refrigeração</b> .....	66
<b>5.2.2 Análise microbiológica para o estudo da vida útil</b> .....	70

<b>5.2.3 Alteração na atividade da peroxidase durante o período de armazenamento refrigerado do feijão-verde.....</b>	<b>74</b>
<b>5.2.4 Monitoramento fotográfico.....</b>	<b>77</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>80</b>
<b>7 TRAJETÓRIA ACADÊMICA.....</b>	<b>81</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>83</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>94</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>105</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo mundial de alimentos segue aumentando, e devido a esta necessidade a preocupação por alimentos saudáveis e de boa qualidade vem ascendendo<sup>1</sup>. Dentre os grupos alimentares, podemos destacar a importância das leguminosas, as quais exercem papel importante no mercado mundial por agregar valor socioeconômico e nutricional para a população<sup>2</sup>.

Um dos alimentos básicos da alimentação humana é o feijão. Esta cultura é parte integrante da dieta há décadas e sua importância mundial de cultivo e consumo envolve a produção sustentável de alimentos voltada para a garantia da segurança alimentar e nutricional da população<sup>2</sup>.

No Brasil, a Instrução Normativa Nº 12 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)<sup>3</sup>, considera feijão os grãos provenientes das espécies *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L) Walp.

O feijão-caupi é da espécie *Vigna unguiculata* L. Walp e pode apresentar denominações distintas como: feijão-de-corda, feijão-macassar, feijão-caupi<sup>3</sup>. No Brasil, o cultivo e comercialização localizam-se principalmente na região Norte e Nordeste e tem se expandido para o Centro-Oeste<sup>4</sup>.

O feijão-caupi, entre as espécies cultivadas de feijão, destaca-se pela sua adaptabilidade ao solo, enquadrando-se de forma essencial nos sistemas de produção nas regiões tropicais, que abrange parte da Ásia, Estados Unidos, Oriente Médio e Américas Central e do Sul<sup>5</sup>.

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Meio-Norte<sup>6</sup>, entre os diversos produtos agrícolas encontrados nas regiões tropicais, o feijão-caupi em grau de maturação verde (feijão-verde) se destaca pelo seu valor nutritivo e pelo baixo custo de produção; é amplamente cultivado pelos pequenos produtores, constituindo um dos principais componentes da alimentação, especialmente na zona rural da região Norte e Nordeste. O feijão-verde constitui importante fonte de proteínas e carboidratos, destacando-se pelo teor de fibras alimentares, vitaminas e minerais, além de possuir baixa quantidade de lipídios<sup>7</sup>.

O feijão-verde apresenta tempo de prateleira curto, se conservado em geladeira tem um período de conservação de, no máximo, 3 dias e a principal causa da degradação é a quantidade de água livre nos grãos, o que torna a matéria-prima

perecível, gerando assim, dificuldade de comercialização e ocasionando o desperdício<sup>8</sup>.

Segundo a *Food and Agriculture Organization*<sup>9</sup>, por dia são desperdiçados até 348 mil toneladas de alimentos na América Latina, assim, a diminuição dessas perdas será primordial para alcançar os objetivos de desenvolvimento sustentável. O desperdício está relacionado a educação dos consumidores, como também, a produção e distribuição sustentável dos alimentos.

Considerando que a falta de conhecimento de padrões metodológicos para pré-tratamento térmico o feijão-verde pode predispor o desperdício e, conseqüentemente, ocasionar prejuízos para a produção agrícola, a intensificação de técnicas que aumentem a estabilidade deste alimento é imprescindível.

O pré-tratamento térmico, vem sendo amplamente utilizado em diferentes alimentos, principalmente nos gêneros agrícolas, com o objetivo de otimizar os processos de conservação e contribuir com a inativação enzimática e o controle microbiológico<sup>10</sup>.

Nesse sentido, há uma tendência para utilização de alternativas tecnológicas para este tipo de grão, aliando os métodos de pré-tratamento e conservação, com o objetivo de aumentar a vida de prateleira dessa matéria-prima. Entre os métodos, pode-se destacar a utilização do branqueamento de alimentos. A técnica atua na redução ou inativação enzimática<sup>11</sup>, na redução da carga microbiana<sup>12</sup>, e com a utilização correta do tempo e da temperatura, a cor é ressaltada e a textura é menos degradada, mantendo as propriedades de qualidade dos vegetais<sup>13</sup>.

É importante que antes da aplicação de qualquer processo de conservação, seja avaliado primeiramente os efeitos do branqueamento para o alimento, pois a aplicação da técnica irá otimizar o método e, conseqüentemente viabilizará um produto com uma melhor característica sensorial e nutricional<sup>14</sup>.

Dessa forma, a definição de procedimentos metodológicos, o estudo dos efeitos e da cinética do branqueamento do feijão-verde é importante para garantir o respaldo científico para a aplicação da técnica, respeitando os padrões físico-químicos da leguminosa, como também, os atributos de qualidade para produção, transporte, comercialização e consumo.

Dentro dessa perspectiva, o beneficiamento com qualidade do feijão-verde apresenta-se como alternativa, não somente em termos comerciais, mas também na

otimização de procedimentos que visam à qualidade do alimento para autoconsumo, permitindo que se obtenha um alimento com as características organolépticas do produto in natura, a segurança microbiológica e favorecendo, concomitantemente, a conservação e o prolongamento da vida de prateleira.

Na literatura há poucos estudos com o feijão-verde e são escassos os que utilizam especificamente pré-tratamentos com o objetivo de melhorar a estabilidade do alimento para consumo e comercialização.

A partir do entendimento da problemática citada, investigou-se a técnica de branqueamento na redução da atividade enzimática, nas características físicas de firmeza e cor do feijão-verde, como também, o pré-tratamento de branqueamento como um método determinante para aumentar a vida útil da leguminosa, com o intuito de contribuir com a produção e comercialização de um produto com aspectos de qualidade desejáveis, com a garantia da oferta ao mercado durante todo ano e para a inserção de consumo para outras regiões.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos do branqueamento no feijão-verde, avaliar os ajustes dos dados experimentais aos modelos cinéticos e analisar a vida de prateleira do feijão-verde in natura e branqueado armazenados sob refrigeração.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar o processo de branqueamento, avaliando as variáveis respostas de atividade enzimática da peroxidase, firmeza, ganho de massa e cor do feijão-verde;
- Estudar o comportamento cinético das variáveis respostas devido ao branqueamento do feijão-verde;
- Determinar a vida de prateleira do feijão-verde in natura e branqueado, armazenado sob refrigeração, avaliando as alterações nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e a atividade enzimática da peroxidase.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 FEIJÃO-CAUPI (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)

Os feijões são espécies da família Fabaceae, são alimentos ricos em carboidratos complexos, proteínas, micronutrientes e vitaminas, e diferenciam-se das oleaginosas pelo baixo teor de lipídios<sup>2,15</sup>.

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma espécie de origem africana e desenvolve-se principalmente nas agroecologias secas da África, América Latina e sul da Ásia<sup>16</sup>.

No Brasil, o cultivo do feijão-caupi foi introduzido pelos colonizadores portugueses no Estado da Bahia em meados do século XVI e a partir daí a produção foi sendo disseminada por todo país, principalmente pelas regiões Norte e Nordeste; o cultivo vem expandindo-se pela região Centro-Oeste, sobretudo no Estado de Mato Grosso<sup>7</sup>. A espécie apresenta designações distintas, de acordo com a região onde é produzida: feijão-caupi, feijão-macassar, feijão-de-corda<sup>3</sup>.

Segundo o levantamento sistemático da produção agrícola, em julho de 2020 a produção nacional de feijão foi de 2.916.704 toneladas (t). No entanto, os dados são publicados com base nas duas espécies de feijão: *Phaseolus vulgaris* (L.) e *Vigna unguiculata* (L.) Walp<sup>17</sup>. Sabe-se que a maior produção de feijão-caupi no Brasil, concentra-se na região Nordeste. No período de julho a agosto de 2020 a estimativa de produção em grãos de feijão-caupi no Brasil, foi de 718.200 t e a região Nordeste apresenta alta demanda produtiva, em razão do elevado consumo, confirmando a superioridade em relação a outras regiões<sup>18</sup>.

De acordo com a Figura 1, é possível visualizar que os principais Estados produtores do feijão-caupi são: Ceará, Piauí, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco. Considera-se também, a expansão da produção para o Centro-Oeste. Essa produção provém em maioria dos médios e grandes empresários que praticam uma agricultura dotada de recursos técnicos. Em contrapartida, a produção no Nordeste é realizada principalmente pela agricultura familiar e pequenos empresários, os quais utilizam práticas tradicionais de produção<sup>7</sup>.

**Figura 1.** Distribuição das regiões produtoras de feijão-caupi no Brasil.



Fonte: Freire Filho et al.<sup>4</sup>

Os grãos do caupi são comercializados em três segmentos de mercado: secos, feijão-verde (grãos imaturos ou vagem) e sementes. Os grãos secos processados industrialmente são responsáveis pela maior comercialização mundial, no entanto o mercado dos grãos imaturos vem ascendendo. O segmento para cultura do feijão-verde vem mostrando-se atrativo pelo valor nutritivo e por apresentar um baixo custo de produção e, a maior parte da comercialização ocorre em torno dos centros urbanos<sup>4</sup>.

### 3.1.1 Grão em maturação verde (feijão-verde)

Segundo o Codex Alimentarius<sup>15</sup>, o feijão-verde é classificado como um vegetal leguminoso, definição estabelecida para as sementes carnudas e vagens não maduras. A colheita do grão verde com umidade em torno de 60% - 70%, deve ser realizada quando as vagens atingirem o volume máximo de crescimento e iniciar mudança na tonalidade da cor verde para amarela ou roxa, de acordo com o cultivar<sup>15</sup>.

Atualmente, tanto a agricultura empresarial quanto a familiar tem interesse na produção do feijão-caupi para o mercado de grãos verdes. No sistema de produção familiar são utilizados métodos tradicionais de plantio e colheita manual, que na

maioria das vezes é praticada em condições de sequeiro; o comércio gira em torno de feiras e pequenos mercados na forma de vagens e grãos debulhados. No sistema produtivo agroindustrial, são utilizadas estruturas tecnológicas para produção, transporte e armazenagem; é praticada tanto em condições de sequeiro, quanto em condições irrigadas e o comércio é realizado nas feiras, restaurantes, supermercados na forma de vagens verdes, grãos debulhados e principalmente grãos ensacados<sup>20</sup>.

Este alimento, apesar de ser um produto sazonal, pode ter seu plantio garantido durante o ano inteiro por meio de processos de irrigação<sup>7</sup>. Os períodos chuvosos são responsáveis pela maior produção anual deste grão. No entanto, devido à alta perecibilidade, cerca de 25% do produto são desperdiçados no período de safra, e a alta produção acarreta o decréscimo do preço de comercialização, promovendo assim prejuízos para os produtores. Essa realidade tem levado o agronegócio a buscar processos de conservação para aumentar a vida útil dessa leguminosa<sup>8</sup>.

Considerando ainda a necessidade de aumento da produção alimentar em todo mundo, a agricultura brasileira vem investindo em mudanças tecnológicas, pois a globalização do agronegócio provoca reflexos na cadeia produtiva de várias espécies, principalmente aquelas culturas que fazem uso de grande volume de insumos e/ou que apresentam alta perecibilidade. Em decorrência disso, o custo da produção tem levado os agricultores a buscar novos arranjos produtivos<sup>7</sup>.

A importância socioeconômica e nutricional do feijão-caupi, tem levado pesquisadores a investigar esta leguminosa, a fim de desenvolver variedades com melhor qualidade, com alto valor nutricional e aumentando o rendimento na produtividade<sup>16,21,22</sup>.

Fortunato, Magalhães e Maria<sup>23</sup>, com o objetivo de desenvolver métodos de conservação para o feijão-verde, estudaram o processo de congelamento da leguminosa, utilizando o branqueamento como pré-tratamento. Foi realizado o estudo de vida de prateleira desse produto por 180 dias, através de análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Não houve diferença significativa dos aspectos sensoriais e físico-químicos durante o período de armazenamento e a análise microbiológica foi satisfatória. O índice de aceitabilidade do feijão-verde congelado foi de 71,1% e 96,6% para o feijão in natura, apesar da diferença, os pesquisadores concluem que o resultado poderia ser diferente em regiões que não consumiam habitualmente esta leguminosa no estágio de maturação verde fresco, pois o processo

de conservação manteve características semelhantes ao produto in natura por 6 meses.

Medeiros<sup>24</sup> propôs estudar o processo de secagem do feijão-verde em leito fixo e leito de jorro, os experimentos mostraram que o processo combinado leito fixo-jorro favoreceu a obtenção de grãos desidratados com umidade uniforme e que após reidratação o feijão recuperava suas propriedades. Na análise sensorial, obtiveram mais de 70% de aceitação em relação aos atributos de sabor e odor, sendo considerado aprovado.

Na pesquisa de Queiroga<sup>8</sup>, foi proposta a análise da secagem dos grãos de feijão verde em micro-ondas com e sem pré-tratamento osmótico, tendo como foco a busca das condições de processo que favorecessem a reidratação do produto, com preservação das características organolépticas. O feijão pré-tratado osmoticamente e reidratado a uma temperatura de 60 °C por 90 minutos apresentou os melhores resultados. No teste de aceitabilidade, comparando-se as amostras de feijão-verde in natura e reidratado nas condições otimizadas, com e sem pré-tratamento osmótico, todos os ensaios apresentaram um bom índice de aceitação (>70%) referente aos atributos analisados (aparência, textura, cor, odor e sabor).

### **3.1.2 Aspectos nutricionais do feijão-verde**

No Brasil, uma das principais fontes de proteína e carboidrato na alimentação diária da população, são as leguminosas<sup>7</sup>. A composição química do feijão é atributo essencial para a qualidade do produto final, esse valor nutricional pode variar de acordo com a estação do ano, variedade, condições agroambientais, armazenamento e processamento<sup>25</sup>.

Os vegetais leguminosos como o feijão-verde e a ervilha (*Pisum sativum* L.), contêm mais água e menos proteínas do que aquelas consumidas como grãos secos. Em contrapartida, os teores de carboidrato são mais altos em leguminosa fresca, o que os torna mais palatáveis do que os secos, pois apresenta um sabor mais suave<sup>26</sup>. Além disso, são fontes de antioxidantes e outros compostos funcionais contidos principalmente na biomassa de plantas frescas, como fenólicos, carotenoides, clorofila, vitamina A e C<sup>27</sup>.

De acordo com Karapanos et al.<sup>28</sup>, as vagens de feijão-caupi são fontes ricas de carboidratos, proteínas e fenólicos, o vegetal leguminoso apresenta alta

atividade antioxidante comparada com a relatada para outros vegetais e o conteúdo em fatores antinutricionais como oligossacarídeos da família da rinoferose (RFOs: rafinose, estaquiose, verbascose) e nitratos são baixos, principalmente quando comparado com o grão seco.

Machado et al.<sup>25</sup> avaliaram o efeito do armazenamento congelado sobre a composição nutricional (proteína bruta e aminoácidos) de vagens de caupi. Embora o armazenamento congelado tenha um impacto no teor total de proteína bruta das vagens de feijão-caupi, sua influência no conteúdo de aminoácidos é bastante limitada.

Salgado, Guerra e Andrade<sup>7</sup> com objetivo de determinar as características físico-químicas do grânulo de amido do feijão-caupi, concluíram que o feijão-verde, em relação ao maduro, apresenta percentual maior de amido resistente e o padrão de cristalinidade mais resistente, também apresentando um percentual de fibra alimentar solúvel compatível com a recomendação do *Food and Drug Administration* (FDA), e um baixo quantitativo lipídico.

O valor energético do feijão-verde e a concentração de vitaminas e minerais, principalmente potássio, composição semelhante à de legumes e hortaliças, comumente consumidos na forma de saladas, torna esse vegetal leguminoso importante para inserção no consumo habitual<sup>24</sup>. O feijão-verde é considerado um prato tradicional na mesa nordestina, e o seu consumo se verifica em todas as camadas sociais<sup>8</sup>.

Com a ascendente valorização da alimentação saudável, o hábito de consumo de feijão-verde tende a expandir-se por todas regiões, devido a suas propriedades nutricionais, viabilizando assim a ampliação de comercialização desta leguminosa<sup>24</sup>.

A leguminosa em grau de maturação verde apresenta alta perecibilidade. Quando conservada em refrigeração, a vida de prateleira é de no máximo 3 dias. Esses fatores estão relacionados à quantidade de água livre presente nos mesmos<sup>8</sup>, bem como à ação das enzimas peroxidase e polifenoloxidase que aceleram o processo de degradação nos alimentos de origem vegetal<sup>29</sup>.

### 3.2 ENZIMAS POLIFENOLOXIDASE E PEROXIDASE

As polifenoloxidasas (PPO) são enzimas com núcleo de cobre, capazes de inserir oxigênio a um grupo hidroxila existente em um anel aromático, seguido pela oxidação do difenol à quinona. A enzima parece ter distribuição quase universal no reino animal e vegetal, e desempenha diversas funções fisiológicas e biológicas nas plantas, como os processos biossintéticos, resistência das plantas ao estresse e patógenos, papel da na defesa contra herbívoros e nas reações de defesa fúngica<sup>30</sup>.

No entanto, após a colheita, os vegetais são susceptíveis a outros processos da enzima PPO. Sabe-se que esta enzima desencadeia reações de escurecimento, por isso são importantes na indústria de vegetais, pois causam deterioração e perda da qualidade dos alimentos. Desta forma, a inativação ou redução da atividade da PPO é imprescindível para controlar esses fatores<sup>31</sup>.

A enzima Peroxidase (POD) catalisa a reação do peróxido de hidrogênio e também de peróxidos orgânicos, que são reduzidos, enquanto um doador de elétrons é oxidado<sup>32</sup>. Essa enzima está presente em diversas fontes vegetais e realizam várias funções biológicas, devido à presença das variadas formas de isoenzimas<sup>33</sup>. As funções da POD no desenvolvimento dos vegetais, estão relacionadas a proteção dos tecidos, agindo como um mecanismo de defesa contra infestações por patógenos<sup>34</sup>, na minimização de desordens fisiológicas e estresses abióticos, pois podem atuar neutralizando espécies reativas de oxigênio<sup>35</sup>.

A POD tem funções nos processos de desenvolvimento e de senescência nos tecidos vegetais, pois sua atividade pode aumentar significativamente após a colheita e diversos compostos orgânicos e inorgânicos torna-se suscetíveis a sua ação<sup>36</sup>.

Desta forma, a peroxidase pode induzir alterações negativas de sabor durante a estocagem de produtos vegetais<sup>37</sup>, como também, as funções sinérgicas da POD e PPO estão relacionadas com a deterioração de qualidade devido à degradação fenólica<sup>38</sup>.

### 3.2.1 Atividade enzimática e deterioração da qualidade de alimentos

A análise enzimática é utilizada com diversas finalidades na ciência e tecnologia de alimentos, como na indicação de processamento adequado, avaliação de preparações enzimáticas, e mensuração dos constituintes dos alimentos<sup>39</sup>.

Os alimentos de origem vegetal são comumente acometidos pelo processo de deterioração, pois apresentam em sua maioria alta atividade enzimática endógena. Este tipo de degradação é um dos mais difíceis de se inibir, devido ao fato de as enzimas serem resistentes a muitos dos métodos de conservação. Com isso, corrobora-se que os complexos enzimáticos podem desencadear alterações indesejáveis, tanto nas características sensoriais de cor, sabor, odor, como também na degradação dos nutrientes<sup>40</sup>.

A polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) são enzimas do grupo das oxidoreduases e são frequentemente encontradas em vegetais, sendo responsáveis pelas catálises de grande número de reações oxidativas, resultando na deterioração de muitos alimentos, tornando a inibição ou redução da atividade enzimática de grande importância<sup>41</sup>.

O mecanismo de escurecimento desencadeado pela PPO envolve a interação de substratos polifenólicos na presença de oxigênio. Esta enzima catalisa duas reações, uma por hidroxilação de monofenóis em difenóis e outra por oxidação de difenóis em quinonas. A reação de oxidação é relativamente rápida e as quinonas resultantes são coloridas. Posteriormente as reações das quinonas levam ao acúmulo de melanina, que é o pigmento responsável pelo escurecimento dos tecidos vegetais<sup>42</sup>. Além disso, a PPO é uma enzima que contém cobre em sua estrutura, o que contribui para o escurecimento enzimático dos vegetais<sup>43,44</sup>.

A ação da enzima peroxidase é relatada como um processo complexo, produzindo peróxidos e induzindo indiretamente à oxidação lipídica, ocasionando alterações sensoriais negativas, desnaturação de membranas biológicas e degradação de macromoléculas como clorofilas, antocianinas ou outros pigmentos, o que pode desencadear os processos de escurecimento nos vegetais<sup>45</sup>.

Dada a importância de preservar as características de qualidade como aparência, cor sabor e odor nos vegetais, antes de qualquer processamento, a inativação de enzimas de ocorrência natural, é fundamental<sup>14</sup>.

A POD é considerada a enzima vegetal mais estável ao calor, e sua inativação tem sido usada como indicador da técnica de branqueamento em vegetais<sup>46</sup>.

No processamento a alta pressão em cenoura peruana, cocoyam e batata-doce, a técnica de branqueamento afetou as enzimas oxidativas (POD e PPO) e foi capaz de ativar ou inativar essas enzimas, dependendo da fonte vegetal. Os autores ainda relataram que, a cor dos tubérculos era compatível com as atividades enzimáticas e, as reações de escurecimento eram principalmente devidas ao comportamento da PPO<sup>43</sup>.

Bhat et al<sup>46</sup>. utilizaram a enzima POD como indicador de alterações na atividade enzimática, cor e propriedades morfológicas durante o branqueamento do fruto *Lagenaria siceraria*, os autores observaram que o branqueamento ôhmico e o convencional mostraram efeito positivo na redução da atividade da peroxidase e na retenção de cor.

### 3.3 BRANQUEAMENTO DE ALIMENTOS

Os alimentos de origem vegetal permanecem com os processos biológicos naturais e vitais ativos mesmo após a colheita<sup>47</sup>. Deste modo, para um aumento no período de conservação e uma redução nas perdas e danos pós-colheita, é fundamental que haja métodos que possam minimizar esses prejuízos<sup>12</sup>.

A utilização do branqueamento é um passo importante que deve ser realizado antes dos métodos de conservação, como refrigerar e congelar, pois permite a desnaturação das enzimas, destruição de microrganismos e eliminação do ar intracelular, prevenindo assim a deterioração da qualidade do alimento<sup>48,49</sup>.

De acordo com Arroqui et al.<sup>50</sup> para determinar a técnica de branqueamento adequada, é necessário estudar o método de transferência de calor, a inativação enzimática e os processos que ocorrem durante o branqueamento e que afetam a qualidade do alimento.

O método de branqueamento é procedido pelo aquecimento rápido do alimento a uma temperatura predeterminada e mantendo-a durante um período especificado, geralmente de 1 a 10 minutos. Em seguida, o produto branqueado é imediatamente resfriado. O tempo necessário para o branqueamento de um produto

será de acordo com os fatores biológicos de cada alimento, bem como pelo período necessário para inativação das enzimas peroxidase e polifenoloxidase<sup>10</sup>.

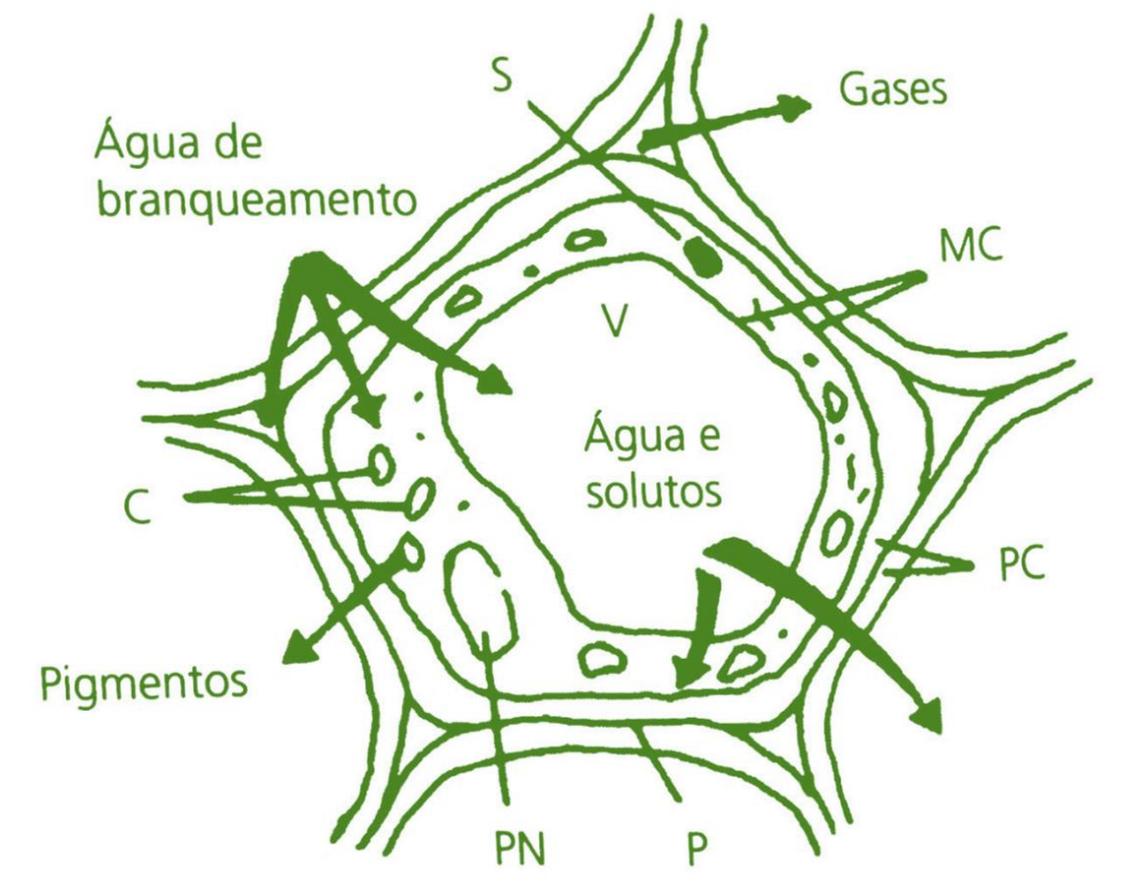
O binômio tempo-temperatura envolve fatores predeterminantes para a aplicação da técnica. A temperatura merece um controle especial, pois caso este parâmetro seja insuficiente ou em excesso, pode causar um dano maior à matéria-prima do que a não utilização do método, uma vez que é possível que o calor aplicado seja suficiente para romper os tecidos (liberando os substratos) e não para inativar as enzimas<sup>51</sup>.

Os principais objetivos da técnica são a inativação enzimática e o controle microbiológico. No entanto, alguns benefícios paralelos são alcançados com a utilização do branqueamento, a elevação na eficiência da extração de compostos bioativos, facilidade para proceder com o peeling de frutas e legumes, diminuição do ar intracelular dos vegetais, melhoramento nas taxas de desidratação, minimização do escurecimento enzimático, entre outras finalidades que afetam de forma benéfica a qualidade dos alimentos<sup>10</sup>.

Quando a técnica é aplicada de forma correta, a parede celular é pouco alterada, as proteínas nucleares e citoplasmáticas são desnaturadas, ocorre a gelatinização do amido, há a expulsão do gás intracelular e os pigmentos ficam mais visíveis<sup>51</sup>. A aplicação da técnica na célula vegetal pode ser observada na Figura 2.

Feng et al.<sup>12</sup> investigaram os efeitos do branqueamento a seco por infravermelho catalítico no processamento e qualidade de fatias de alho. Os resultados indicaram que o aumento da temperatura de processamento e/ou a redução da espessura do corte aceleraram o aumento da temperatura interna, ocasionando a inativação da peroxidase e a redução da umidade. A concentração microbiana foi inferior ao limite máximo permitido e, com isso, os autores concluíram que a aplicação do branqueamento é um método eficaz para a redução da carga microbiana, melhorando assim a segurança das fatias de alho.

**Figura 2.** Efeito do branqueamento no tecido celular vegetal.



Legenda: (S = amido gelatinizado; MC = membrana citoplasmática alterada; PC = parede celular pouco alterada; P = pectinas modificadas; PN = proteínas nucleares e citoplasmáticas desnaturadas; C = cloroplastos e cromoplastos distorcidos).

Fonte: Adaptado de Fellows<sup>51</sup>.

Yang et al.<sup>52</sup> descobriram que o pré-tratamento de branqueamento por imersão de vapor superaquecido em pimentas, diminuiu consideravelmente o tempo de secagem e a perda de pigmentos vermelhos. Com isso, o tratamento mostrou-se promissor, pois não apenas melhorou o processo de secagem, mas também teve um resultado positivo na preservação da substância bioativa da pimenta vermelha.

Um estudo que objetivou avaliar o efeito do branqueamento combinado com o extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) na estabilidade oxidativa de ervilhas ao longo de armazenamento refrigerado e congelado, apresentou como resultados que o branqueamento por 2 minutos a 97 °C e combinado com o extrato foi o tratamento mais eficaz para inibir a oxidação e pode ser uma nova alternativa para aumentar a estabilidade oxidativa das ervilhas<sup>53</sup>.

Desta forma, é importante o conhecimento de alguns fatores que afetam este tipo de processamento térmico, como: a condutividade térmica do alimento; o binômio temperatura-tempo que será utilizado e o método de aplicação; a forma e o tamanho do alimento; e a especificidade da cultivar e o grau de amadurecimento<sup>51</sup>.

### 3.3.1 Cinética de branqueamento

O estudo da cinética proporciona conhecimento dos fenômenos analisados e é essencial para prever mudanças durante o processo de branqueamento. Os resultados cinéticos promovem a abrangência do conhecimento dos aspectos de qualidade e podem inferir as condições ótimas de processamento, o que será importante para aplicação do método e, conseqüentemente, para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios<sup>13</sup>.

Segundo Gonçalves et al.<sup>54</sup>, para otimizar o tratamento de branqueamento e ter uma abordagem eficiente da técnica, é fundamental desenvolver estudos cinéticos e investigar os efeitos da temperatura e do tempo na extensão das alterações das propriedades de atividade enzimática, alterações físicas e conteúdos fenólicos.

Os modelos cinéticos como os de ordem zero, primeira ordem, primeira ordem bifásica e combinada, têm sido usados para descrever os resultados de ensaios de textura, cor e atividade enzimática para uma variedade de produtos agroalimentares<sup>55,13,56,57</sup>.

A pesquisa desenvolvida por Bernstein e Norenã<sup>57</sup>, objetivou estudar a cinética de inativação das enzimas PPO, POD e mirosinase, em fatias de repolho roxo durante o branqueamento. O modelo bifásico foi utilizado para descrever a cinética de inativação das enzimas PPO e mirosinase do repolho roxo e o modelo combinado de primeira ordem foi usado para descrever a cinética de outras variáveis. Os resultados indicaram que a melhor condição de branqueamento foi obtida na temperatura de 100 °C em vapor por 4 minutos e as constantes de taxa de reação aumentaram para todas as enzimas com o aumento da temperatura de branqueamento.

Gonçalves et al.<sup>54</sup> utilizaram o modelo de reação de primeira ordem para descrever a inativação da peroxidase, a degradação do conteúdo fenólico total e a alteração da cor (parâmetro  $L^*$ ) em cenouras submetidas ao branqueamento. A vermelhidão e a cor amarelada (parâmetro  $a^*$  e  $b^*$ , respectivamente) e as mudanças na firmeza, apresentaram um comportamento do modelo cinético de conversão

fracionária. Os autores sugeriram 80 °C durante 6 minutos como melhor condição para maximizar a qualidade.

### **3.3.2 Viabilidade econômica da técnica de branqueamento**

O retorno financeiro é um dos principais objetivos buscados pelos produtores rurais no processo de intensificação sustentável e aplicação de novas tecnologias de produção na agroindústria<sup>58</sup>.

Os dois métodos de branqueamento mais comerciais, simples e econômicos são os que utilizam a passagem do alimento por atmosfera de vapor saturado ou imersão em água quente. A escolha do método se dará pela especificidade da matéria-prima utilizada e pelos recursos disponíveis, pois ambos trazem vantagens e desvantagens.

O branqueamento a vapor é preferível para alimentos com ampla área de corte, por proporcionar menor perda de nutrientes solúveis e apresentar maior eficiência energética, porém podendo resultar na perda de massa, implica em uma limpeza limitada do alimento, e não tem distribuição de calor uniforme. Branqueamento por imersão em água quente, utiliza menos espaço na área de processamento, proporciona um aquecimento mais uniforme e aumenta o rendimento pela absorção da água; entretanto, utiliza quantidade maior de efluentes e, caso não seja controlado, tem risco de contaminação da água por bactérias termofílicas<sup>51</sup>.

Xiao et al.<sup>10</sup> afirmaram que as tecnologias de processamento de alimentos, são uma tendência para minimizar o custo de produção, o desperdício de alimentos e maximizar a sustentabilidade do processo de comercialização e obtenção de produtos de melhor qualidade.

Para uma análise da viabilidade financeira e econômica dos sistemas de produção e processamento de cultivar, é necessário a realização aprofundada de análises dos indicadores de eficiência econômica, análise financeira do investimento e da sensibilidade dos preços no mercado<sup>59</sup>.

## 4 METODOLOGIA

O estudo tem caráter explicativo, com abordagem quantitativa e do tipo pesquisa experimental. A pesquisa foi desenvolvida em duas etapas: Fase 1 – Estudo dos efeitos do branqueamento no feijão-verde e avaliação cinética das variáveis atividade enzimática, firmeza e cor. Fase 2 – Determinação da vida de prateleira do produto armazenado sob refrigeração.

### 4.1 MATÉRIA-PRIMA

A matéria-prima utilizada nos experimentos foi o feijão-verde (*Vigna unguiculata* L. Walp.) in natura, cultivar Chico Joaquim, cedida por um produtor da região Agreste Potiguar do município de Boa Saúde, Rio Grande no Norte, no período de dezembro de 2019 a fevereiro de 2020. O feijão-verde foi recepcionado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Nutrição (DNUT) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), com menos de 15 horas após o processo de colheita, debulha e ensacamento, e mantido sob temperatura ambiente (24 °C) durante o processo de seleção. A leguminosa foi homogeneizada e os grãos escolhidos de forma aleatória. A seleção foi realizada de acordo com os seguintes padrões de qualidade: não apresentar danos físicos, rachaduras, perfurações, estar com grau de maturação verde, e apresentar uniformidade de tamanho e cor (Figura 3). Todas as análises posteriores à aplicação da técnica de branqueamento, foram realizadas com a amostra controle feijão-verde in natura (FVI) e com o feijão-verde branqueado (FVB) para que fosse estabelecido um comparativo dos resultados.

Esta pesquisa foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob o número AF4C703 (Anexo A), com o objetivo de desenvolver pesquisa e desenvolvimento tecnológico com o feijão-verde.

**Figura 3.** Feijão-verde (*Vigna unguiculata* L. Walp) in natura, cultivar Chico Joaquim, selecionado segundo os padrões de qualidade estabelecidos.



Fonte: Arquivo pessoal.

## 4.2 FASE 1 - ESTUDO DOS EFEITOS DO BRANQUEAMENTO NO FEIJÃO-VERDE E AVALIAÇÃO CINÉTICA DAS VARIÁVEIS ATIVIDADE ENZIMÁTICA, FIRMEZA E COR.

### 4.2.1 Processo de branqueamento

Para os ensaios de branqueamento do feijão-verde foram testados diversos binômios temperatura-tempo em um delineamento fatorial 3 x 6 (dois fatores, sendo temperatura em três níveis e tempo em seis níveis), gerando 18 ensaios (Tabela 1) que foram executados em ordem aleatória e em duplicata. Cada ensaio de branqueamento seguiu o fluxograma de processamento descrito na Figura 4.

Um lote contendo 30 kg de grãos de feijão-verde foram recepcionados à temperatura ambiente. Posteriormente foi realizada a seleção manual de acordo com os padrões de qualidade citados no item 4.1. Em seguida, os grãos passaram pelo processo de pesagem em balança de precisão (Mark S3201, Bel<sup>®</sup>, São Paulo, Brasil) sendo separados 200 g por amostra de cada ensaio. Para cada ensaio foram analisadas duas amostras de 200 g. Em banho-maria termostatizado (Luca-150/10D, Lucadema<sup>®</sup>, São Paulo, Brasil) e utilizando água destilada, as amostras foram submetidas ao tratamento térmico, com posterior drenagem e imediatamente

arrefecidas em banho de gelo até atingir a temperatura de 10 °C. Por fim, realizou-se o envase das amostras em sacos plásticos de polietileno (200 g), os quais foram acondicionados até o momento da análise à temperatura de refrigeração 4,90 °C (0,32). As amostras para análise da atividade enzimática foram mantidas em congelamento (- 18 °C) até o momento da análise. As análises foram realizadas no mesmo dia da aplicação do tratamento térmico. Como variáveis respostas foram analisadas a atividade enzimática, firmeza, ganho de massa e cor.

**Tabela 1.** Matriz das variáveis independentes para os ensaios de branqueamento do feijão-verde.

<b>ENSAIOS</b>	<b>TEMPERATURA (°C)</b>	<b>TEMPO (MINUTOS)</b>
<b>1</b>	70	1
<b>2</b>	70	2
<b>3</b>	70	4
<b>4</b>	70	6
<b>5</b>	70	8
<b>6</b>	70	10
<b>7</b>	80	1
<b>8</b>	80	2
<b>9</b>	80	4
<b>10</b>	80	6
<b>11</b>	80	8
<b>12</b>	80	10
<b>13</b>	90	1
<b>14</b>	90	2
<b>15</b>	90	4
<b>16</b>	90	6
<b>17</b>	90	8
<b>18</b>	90	10

**Figura 4.** Fluxograma ilustrativo de processamento para obtenção do feijão-verde branqueado.



Fonte: Arquivo pessoal.

## 4.2.2 Ensaio enzimático

A preparação do extrato bruto e a determinação da atividade enzimática foram realizadas no Laboratório de Bromatologia e no Laboratório de Tecnologia e Biotecnologia Farmacêutica (TECBIOFAR) do Departamento de Farmácia da UFRN.

### 4.2.2.1 Preparação do extrato enzimático bruto

A obtenção do extrato enzimático bruto foi realizada de acordo com o proposto por Bonnely et al.<sup>60</sup> e Campos e Silveira<sup>61</sup>, com modificações. As amostras (2 g) de feijão-verde congeladas (-18 °C), foram maceradas e homogeneizadas (1 minuto) em almofariz em banho de gelo com 1,6 g de polivinilpirrolidona (PVP K30) e adição de 30 mL de solução tampão fosfato frio 0,05 mol.L<sup>-1</sup> a pH 7,0. A dispersão obtida foi centrifugada a 4500 g durante 20 minutos sob refrigeração (4 °C) (Centrifuga 5804R, Eppendorf®, Hamburgo, Alemanha) e posteriormente filtrada a vácuo (Bomba a vácuo VP260, Tipi®, Rio Grande do Sul, Brasil). O sobrenadante (extrato bruto) foi utilizado na determinação da atividade da enzima peroxidase (POD). O extrato bruto foi acondicionado sob refrigeração a 4 °C em gelo até a utilização como fonte enzimática.

### 4.2.2.2 Determinação da atividade enzimática

Para a análise da atividade da peroxidase foi procedida a mistura reacional de 2500 µL de solução tampão fosfato-citrato 0,05 mol.L<sup>-1</sup> e pH 5,0, 100 µL de extrato bruto e 250 µL de guaiacol a 0,5%. Posteriormente, foram adicionados 250 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% e, agitado em vortex. A mistura foi incubada em banho-maria a 30 °C por 15 minutos. Após a incubação, os tubos contendo as amostras foram colocados em banho de gelo e adicionaram-se 250 µL da solução de metabissulfito de sódio a 2%. Em seguida, os tubos ficaram em repouso por 10 minutos. A determinação da atividade enzimática foi realizada com a leitura de absorbância a 450 nm em espectrofotômetro UV-Visível (Espectrofotômetro Digital Sp-220, Bioespectro®, Paraná, Brasil). Como controle, o extrato bruto foi substituído por água destilada. Uma unidade da atividade enzimática é definida como a quantidade de extrato bruto que acusou um aumento na absorbância de 0,001 unidade por minuto<sup>61</sup>.

As leituras de absorvância para a POD foram realizadas em triplicata. A atividade da enzima foi expressa em unidade enzimática (U/g), segundo a Equação 1.

$$\text{Equação 1. } U/g = \frac{A}{\epsilon} \times \frac{1}{V_e} \times FD \times \frac{1}{t} \times 1000 \times \frac{Et (mL)}{P(g)}$$

Onde: U/g= unidade de atividade por g de feijão; A = absorvância;  $\epsilon$  = absortividade molar do tetraguaiacol ( $26.600 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ );  $V_e$ = volume da solução de enzima utilizada no ensaio (mL); FD = fator de diluição (diluição do extrato bruto enzimático); t = tempo de reação em minutos; Et (mL)= rendimento total do extrato bruto em mL e; P (g)= massa de grãos utilizados para o extrato bruto.

A atividade relativa da POD foi calculada conforme a Equação 2<sup>12</sup>.

$$\text{Equação 2. Atividade Enzimática Relativa (AER \%)} = \frac{A_t}{A_o} \times 100 \%$$

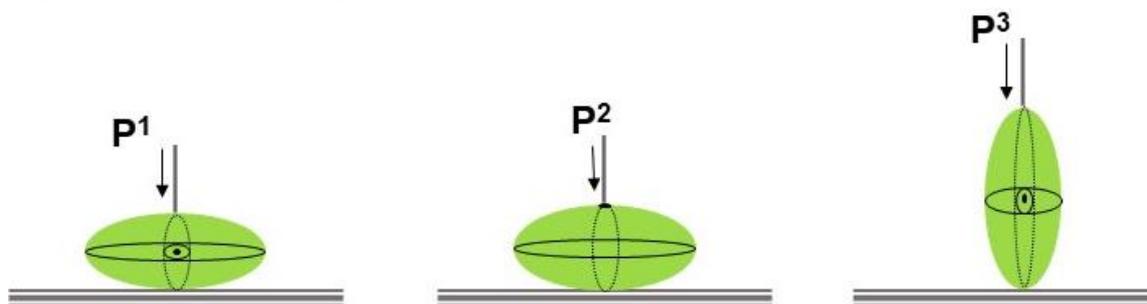
Onde,  $A_t$  é a atividade da POD da amostra branqueada e  $A_o$  é a atividade da enzima da amostra in natura.

#### 4.2.3 Análise instrumental da firmeza

O parâmetro texturométrico utilizado para as amostras do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB) foi a propriedade de firmeza. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fisiologia e Tecnologia de Pós-Colheita, sediado na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). A análise foi realizada com o equipamento texturômetro (TA. XT Express, Stable Micro Systems®, Surrey, Reino Unido) equipado com sonda cilíndrica de 2 mm de diâmetro. O equipamento foi calibrado previamente com uma célula de carga de 2 kg. Para testes de punção, os grãos foram perfurados em plataforma de aço inoxidável a uma taxa de 2 mm / s, com força de gatilho de 0,049 N, no modo teste de compressão. A análise foi realizada de acordo com Resende et al.<sup>62</sup>, com modificações. Os grãos foram perfurados em 3 posições distintas, conforme ilustrado na Figura 5 [comprimento ( $P^1$ ) – menor eixo, largura ( $P^2$ ) – eixo médio e altura ( $P^3$ ) – maior eixo]. Para cada eixo, foram utilizados 5 grãos, totalizando a análise de 15 grãos por amostra.

Os dados foram expressos em força máxima de perfuração, Newton (N).

**Figura 5.** Posição dos grãos de feijão-verde para análise instrumental da firmeza.



Legenda: P<sup>1</sup> - comprimento, menor eixo; P<sup>2</sup> - largura, eixo médio; P<sup>3</sup> - altura, maior eixo  
 Fonte: Adaptado de Resende et al.<sup>62</sup>

#### 4.2.4 Ganho de massa após o processo de branqueamento

O ganho de massa do feijão-verde branqueado foi analisado para avaliar a absorção de água das amostras durante o tratamento térmico por imersão. Os grãos foram pesados em balança de precisão (Mark S3201, Bel<sup>®</sup>, São Paulo, Brasil) antes da aplicação da técnica e imediatamente após o resfriamento, em banho de gelo. A água exsudada foi drenada antes da pesagem. Os resultados foram apresentados como porcentagem de ganho de massa, de acordo com a Equação 3. Onde, M<sub>0</sub> é a massa inicial da amostra não tratada (grãos in natura) e M<sub>1</sub> representa a massa das amostras tratadas (grãos branqueados).

**Equação 3.** Ganho de massa (%) =  $\left[ \frac{M_1 - M_0}{M_0} \right] \times 100$

#### 4.2.5 Análise instrumental da cor

A análise colorimétrica foi realizada no Laboratório de Análises Instrumentais e Sensoriais de Alimentos (LANIS), sediado na Universidade Federal Rural do Semi-Árido. A cor dos grãos de feijão-verde foi medida antes (grão in natura) e imediatamente após o processo de branqueamento, usando espectrofotômetro portátil (CM-700d, Konica Minolta<sup>®</sup>, Tokyo, Japão). A cor foi expressa conforme a codificação da Comissão Internacional da Iluminação (CIE) por L\* (Luminosidade), a\* (vermelho-verde) e b\* (amarelo-azul). A análise do croma foi definido pela Equação 4, para avaliação do índice de saturação. O espectrofotômetro (Figura 6) foi ajustado com padrão de calibração branco (CM-A177, Konica Minolta, Tokyo, Japão). As

amostras foram colocadas em uma placa de Petri de vidro transparente e a medição de cor foi realizada em triplicata por amostra.

**Equação 4.**  $\text{Croma} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$

**Figura 6.** Análise instrumental de cor da amostra de feijão-verde com espectrofotômetro portátil.



Fonte: Arquivo pessoal.

#### 4.2.6 Padrões matemáticos para análises cinéticas

Os dados experimentais da atividade enzimática e das variações de firmeza e cor foram aplicados a diferentes modelos cinéticos para verificar o ajuste dos resultados aos modelos de ordem zero (Equação 5), primeira ordem (Equação 6) ou primeira ordem fracionária (Equação 7).

**Equação 5.**  $C(t) = C_0 - kt$

**Equação 6.**  $\frac{C}{C_0} = e^{-kt}$

**Equação 7.**  $C(t) = C_{eq} + (C_0 - C_{eq})e^{-kt}$

$C$  corresponde ao fator de qualidade avaliado, o subscrito 0 indica o valor inicial do parâmetro,  $t$  é o tempo de branqueamento, e  $k$  indica a constante de velocidade na temperatura utilizada. O subscrito eq indica o valor de equilíbrio. O

efeito da temperatura nas constantes de taxa  $k$ , foi descrita pela lei de Arrhenius, utilizando a Equação 8, onde  $k_e$  é a constante pré-exponencial;  $E_a$  é a energia de ativação (obtida através de regressão linear, estimada diretamente a partir dos dados experimentais em uma etapa - fator de qualidade versus tempo, em todas as temperaturas);  $R$  é a constante universal dos gases ( $8,3145 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ); e  $T$  é a temperatura absoluta (em kelvin)<sup>13</sup>.

**Equação 8.**  $k = k_e \left[ -\frac{E_a}{R} \left( \frac{1}{T} \right) \right]$

#### 4.2.7 Definição das condições ideais de branqueamento

A escolha do melhor ensaio de branqueamento foi estabelecida pelas amostras que apresentaram a melhor combinação de temperatura e tempo, de acordo com as variáveis respostas de: diminuição da atividade enzimática, firmeza, cor e ganho de massa da matéria-prima. Os aspectos qualitativos avaliados, levaram em consideração a combinação dos resultados, sendo: redução significativa da atividade enzimática; propriedades de firmeza com menor deterioração; índices de cor com parâmetros semelhantes à amostra controle ou com  $L^*$  maior,  $a^*$  mais negativo (a amostra tem matiz verde),  $b^*$  mais positivo, o croma com valores positivos (maior saturação); e ganho de massa moderado para não comprometer a consistência dos grãos.

#### 4.2.8 Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em duplicata e de forma aleatória, e as análises foram em triplicata. As variáveis independentes foram a temperatura e o tempo de branqueamento e as variáveis respostas foram atividade enzimática, cor, firmeza e ganho de massa. Os resultados obtidos foram tabulados e submetidos à estatística descritiva utilizando o Microsoft Excel. Os pressupostos para análises paramétricas foram testados segundo o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para avaliar os efeitos das variáveis independentes nas variáveis respostas foi realizada a ANOVA de efeito fixo considerando um intervalo de confiança de 95%.

Foram gerados os gráficos de interações e os diagramas de Pareto dos efeitos padronizados. Em seguida, foi utilizado o teste Tukey para avaliar as diferenças das médias. Foi adotado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) para todas as análises realizadas. A análise estatística dos dados foi realizada por meio dos softwares Action Stat (Action Stat 3.0, Estatcamp®, São Paulo, Brasil) e Minitab Statistical (Minitab, Minitab LLC®, Pensilvânia, Estados Unidos da América).

#### 4.3 FASE 2 – DETERMINAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA DO PRODUTO ARMAZENADO SOB REFRIGERAÇÃO.

##### 4.3.1 Matéria-prima

Para a realização da segunda fase da pesquisa, foram recepcionados um lote com 15 kg de feijão-verde e posteriormente foram realizadas as etapas de seleção, branqueamento, ensacamento e acondicionamento, segundo os procedimentos descritos no item 4.1 e 4.2.1.

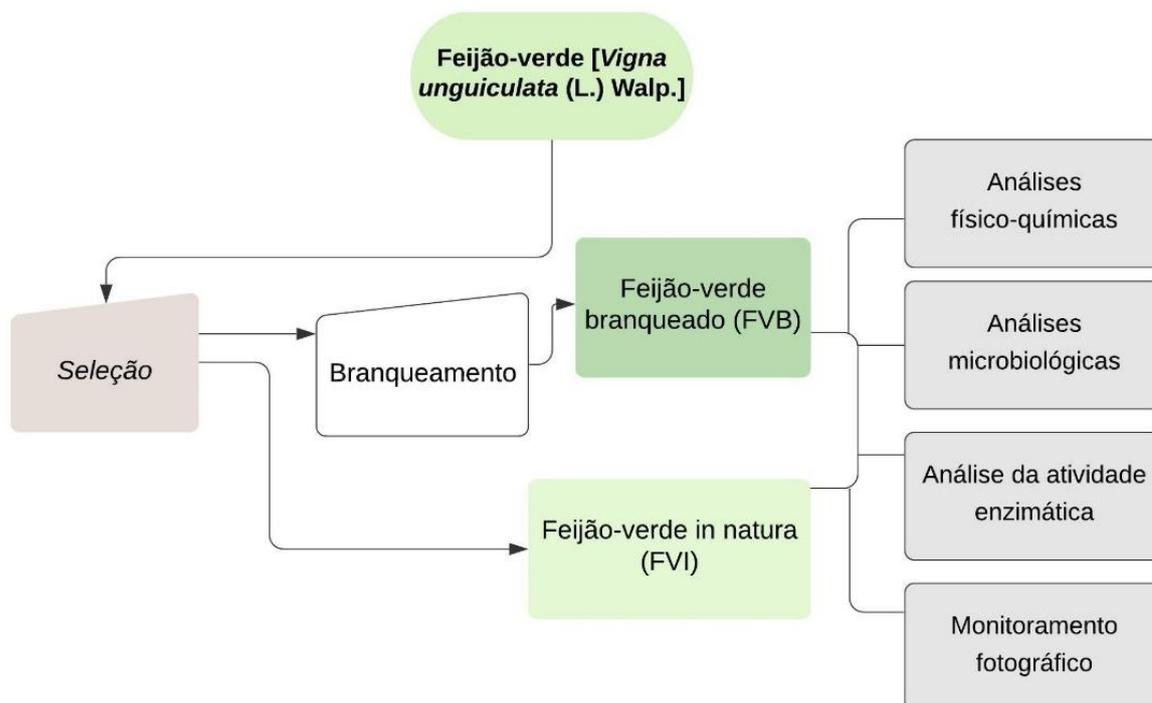
##### 4.3.2 Delineamento experimental

Para a realização da fase 2, foram utilizadas duas amostras: feijão-verde in natura (FVI) – controle e feijão-verde branqueado (FVB). O binômio temperatura-tempo utilizado para o branqueamento foi o que atendeu aos critérios estabelecidos no item 4.2.7 da fase 1. Os ensaios foram realizados duas vezes de forma aleatória, e as amostras foram analisadas em triplicata. As amostras FVI e FVB foram embaladas em sacos plásticos de polietileno com 200 g cada, a divisão das amostras foi realizada de forma aleatória e armazenadas de forma randomizada, pelo período de quatorze dias sob refrigeração a 4,90 °C (0,32).

Durante o período de armazenamento, foram realizadas análises físico-químicas, microbiológicas, determinação da atividade enzimática e monitoramento fotográfico das amostras (Figura 7). Os ensaios experimentais foram executados a cada dois dias (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14) para as amostras refrigeradas, com o objetivo de avaliar as alterações toleradas pelo produto e determinar a vida de prateleira do feijão-verde in natura e do feijão-verde branqueado. As amostras foram retiradas a cada dia de análise de forma randomizada por meio de sorteio, tendo um

delineamento inteiramente casualizado. A especificação final da vida útil foi baseada em uma comparação entre os resultados das análises químicas e microbiológicas<sup>63</sup>, como também, pelo monitoramento visual e fotográfico das amostras, a fim de observar as alterações durante o período de senescência dos grãos.

**Figura 7.** Fluxograma do delineamento experimental fase 2.



#### 4.3.3 Caracterização físico-química

No Laboratório de Análise de Alimentos do DNUT/UFRN, foi realizada a determinação do pH e a análise da acidez total titulável (ATT). A análise do pH foi estabelecida utilizando um pHmetro de bancada (pH21-01, Hanna Instruments®, São Paulo, Brasil). A medida eletrométrica foi realizada com um eletrodo de vidro, calibrado com as soluções tampão (4 e 7) e posteriormente foi procedida a leitura das amostras<sup>64</sup>. Foram utilizadas 10 g da amostra triturada, sendo estas dispersas em 100 mL de água destilada.

A análise de acidez foi determinada de acordo com o Instituto Adolfo Lutz<sup>64</sup>, utilizando o método de acidez titulável por volumetria com indicador. Foram utilizadas 5 g da amostra triturada, sendo estas dispersas em 50 mL de água destilada. Foi realizada a titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 M (Proquimios, grau de pureza de 97%), padronizada com biftalato de potássio. A titulação foi realizada sob

agitação constante, até coloração rósea persistente por 30 segundos, utilizando como indicador a solução de fenolftaleína. O resultado foi expresso em g de ácido cítrico por cento. Segundo a Equação 9, onde: V = volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL; M = molaridade da solução de hidróxido de sódio; P = massa da amostra em g ou volume pipetado em mL; MM = massa molecular do ácido correspondente em g (192); n = número de hidrogênios ionizáveis (3); e F = fator de correção da solução de hidróxido de sódio.

**Equação 9.** 
$$\text{ATT (\% ácido cítrico m/V)} = \frac{V \times F \times M \times MM}{10 \times P \times n}$$

#### 4.3.4 Análise microbiológica

##### 4.3.4.1 Preparo das amostras e das diluições

Todos os meios de cultura, bem como, os utensílios utilizados nas análises microbiológicas estavam previamente estéreis. Foram utilizadas 200 g de cada amostra por dia de análise, estas foram previamente trituradas de forma asséptica com o auxílio de um mixer (PMX700, Philco®, Amazonas, Brasil), posteriormente foi procedido o preparo das diluições, utilizando 10 g da amostra triturada e homogeneizada com 90 mL de água peptonada a 0,1%, sendo está a diluição 10<sup>-1</sup>. Desta diluição 10<sup>-1</sup>, foram realizadas as diluições seriadas, retirando 1 mL da diluição anterior e inoculando em um tubo contendo 9 mL de água peptonada a 0,1%. Para a análise de *Salmonella*, 25 g da amostra triturada foi homogeneizada com água peptonada tamponada a 1%.

##### 4.3.4.2 Métodos e padrões microbiológicos

A análise microbiológica foi realizada no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do DNUT/UFRN. Foram avaliadas a contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em placas<sup>65</sup>, pesquisa de *Salmonella sp/25g*<sup>66</sup>, determinação do número mais provável (NMP) para coliformes a 45 °C e *Escherichia coli (E.coli)*<sup>67</sup>, e pesquisa de Estafilococos coagulase positiva/g pelo método de contagem direta em placas<sup>68</sup>.

Os padrões microbiológicos adotados para a pesquisa seguiram a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019<sup>69</sup>, sendo complementada pela Instrução Normativa (IN) nº 60, de 23 de dezembro de 2019<sup>70</sup>. A citada Instrução Normativa da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, não estabelece critérios específicos para leguminosas imaturas branqueadas. Desta forma, foi utilizado como padrão o grupo de alimentos hortaliças, raízes, tubérculos, fungos comestíveis e derivados [Preparados (inteiros, descascados ou fracionados), sanificados, branqueados, pré-fritos, refrigerados ou congelados, que necessitam de tratamento térmico efetivo previamente ao consumo], que tem como padrão microbiológico ausência de *Salmonella* em 25 g e *Escherichia coli* até  $5 \times 10^2$  NMP/g.

#### **4.3.5 Determinação da atividade enzimática**

Foi realizada segundo a metodologia descrita no item 4.2.2.

#### **4.3.6 Monitoramento fotográfico das amostras armazenadas sob refrigeração**

No período de armazenamento refrigerado das amostras (0-14 dias), foi realizado o registro fotográfico dos grãos para o monitoramento visual das alterações de senescência, tais como: degradação da cor, desprendimento do tegumento, feridas, enrugamento, podridão e formação de espuma.

Os registros fotográficos foram obtidos com o uso de equipamento adequado e capaz de fornecer efeitos satisfatórios em qualidade de imagem. As amostras (100 g) foram postas em placa de petri e posicionadas em um ponto fixo central de um estúdio fotográfico portátil (Pop Up Studio 35, Mutu<sup>®</sup>, São Paulo, Brasil), utilizando um fundo branco e uma luz padrão em led com potência de 5600 Lumens. A captura das imagens foi realizada utilizando uma câmera de aparelho telefônico (Iphone Se A1723, Apple<sup>®</sup>, Taiwan, China), com zoom e flash desligados. Para proporcionar uma melhor visualização, as fotos foram feitas com ângulo de 90° da lente fotográfica em relação a amostra.

Foram feitos três registros de cada amostra, com o objetivo de obter aquela que mais se adequasse às exigências técnicas de qualidade da imagem, tais como: resolução, ajuste padrão da iluminação e o ângulo da foto.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os ensaios foram realizados em duplicata e de forma aleatória, e as análises foram em triplicata. As variáveis independentes foram o pré-tratamento (com ou sem branqueamento) e o tempo de armazenamento sob refrigeração (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias). As variáveis respostas foram pH, acidez titulável, contagem de mesófilos e psicotróficos e atividade enzimática. Os resultados obtidos foram tabulados e submetidos à estatística descritiva utilizando o Microsoft Excel. Os pressupostos para análises paramétricas foram testados segundo o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para avaliar os efeitos das variáveis independentes nas variáveis respostas foi realizada a ANOVA de efeito fixo considerando um intervalo de confiança de 95%. Foram gerados os gráficos de interações e os diagramas de Pareto dos efeitos padronizados. Em seguida, foi utilizado o teste de Tukey para avaliar as diferenças das médias. Para comparação das médias dos tratamentos com o grupo controle, foi utilizado o teste t. Foi adotado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) para todas as análises realizadas. A análise estatística dos dados foi realizada por meio dos softwares Action Stat (Action Stat 3.0, Estatcamp®, São Paulo, Brasil) e Minitab Statistical (Minitab, Minitab LLC®, Pensilvânia, Estados Unidos da América).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 FASE 1 - ESTUDO DOS EFEITOS DO BRANQUEAMENTO NO FEIJÃO-VERDE E AVALIAÇÃO CINÉTICA DAS VARIÁVEIS ATIVIDADE ENZIMÁTICA, FIRMEZA E COR.

#### 5.1.1 Efeito do branqueamento na atividade da peroxidase

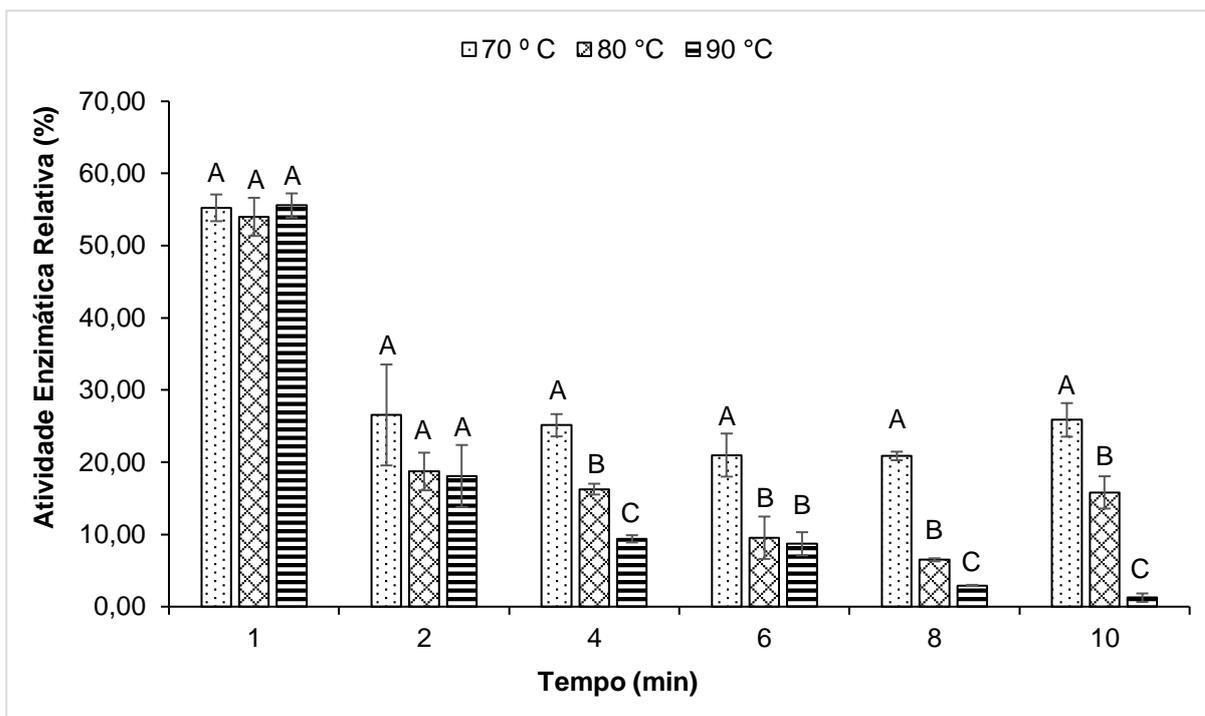
As atividades da peroxidase (POD) estão apresentadas na Figura 8 e Apêndice A, onde são apresentados os dados da atividade enzimática relativa (AER %) dos 18 ensaios experimentais de branqueamento, em três temperaturas distintas (70, 80 e 90 ° C) e seis tempos (1, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos).

A amostra controle (FVI) foi considerada com 100% da AER, os perfis obtidos exibem que, independentemente da temperatura utilizada, o branqueamento apresentou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para a diminuição da atividade enzimática e esse decréscimo foi acentuado com o aumento do tempo de processamento e com a elevação da temperatura (Apêndice A). Quando as amostras foram submetidas a 70 °C por 1 min, observou-se uma AER de 55,24%, não apresentando diferença significativa nas temperaturas de 80 e 90 °C. No entanto, a partir de 4 min de tratamento, as temperaturas de 80 e 90 °C revelaram uma maior intensidade de inibição da POD (Figura 8).

A desnaturação da enzima com o aumento da temperatura pode ser elucidada pelo caráter bifásico das isoenzimas, onde as frações sensíveis ao calor e resistentes ao calor têm dois requisitos distintos para a inativação. Na fase inicial, a maior parte das frações lábeis ao calor é inativada, enquanto no estágio final, apenas as frações resistentes ao aquecimento continuam ativas, o que requer não apenas o aumento do tempo de exposição, mas principalmente, a elevação da temperatura para inativar completamente ou diminuir ao máximo a AER<sup>46</sup>.

De modo geral, os tempos que favorecem a diminuição da atividade enzimática são aqueles definidos a partir de 4 minutos, apresentando uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ), em todas as temperaturas estudadas. A atividade residual da POD apresentou como melhores tratamentos o de 90 °C por 8 minutos com AER= 2,94% e, a 90 °C por 10 minutos com AER= 1,25%.

**Figura 8.** Atividade enzimática relativa da peroxidase em diferentes binômios temperatura-tempo após tratamento de branqueamento.

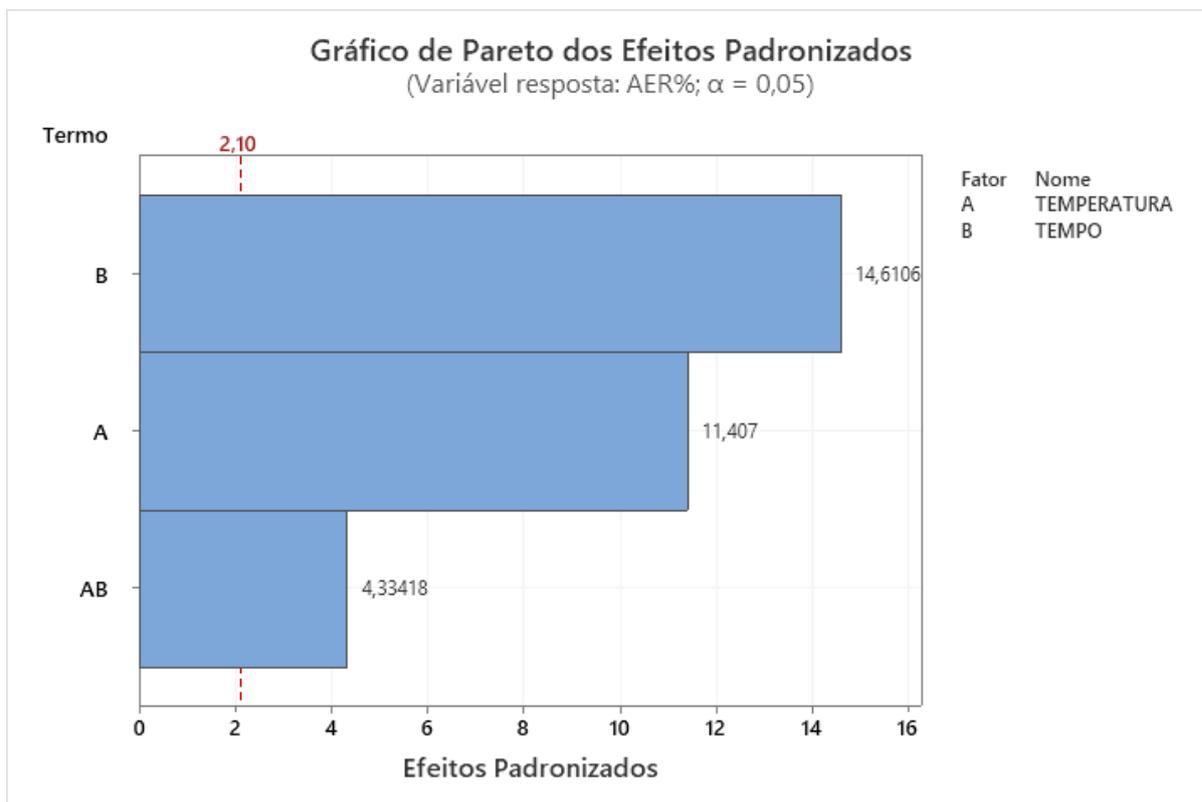


Médias de duas amostras e barra de desvio padrão. Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>ABC</sup>. Médias com diferentes letras, em cada tempo (min) de branqueamento, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

Conforme mostra o gráfico de Pareto (Figura 9), que envolve as variáveis temperatura e tempo de branqueamento, e a interação entre elas, os efeitos foram estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) sobre a variável resposta atividade enzimática relativa (%). Observa-se que o tempo de branqueamento foi o que influenciou de forma mais acentuada na diminuição da atividade da peroxidase, e a temperatura, como, a interação do tempo e temperatura também influenciou de forma significativa com efeito positivo. Os efeitos provocados pelas variáveis independentes e pela interação destas mostram que quanto maior o tempo de branqueamento e a elevação da temperatura, maior é a inativação da enzima.

**Figura 9.** Gráfico de Pareto com estimativa dos efeitos sobre a atividade enzimática relativa (%) nos grãos de feijão-verde submetidos a branqueamento.



Os resultados foram semelhantes aos obtidos na pesquisa desenvolvida por Ruiz-Ojeda e Penãs<sup>71</sup>, onde encontraram que a temperatura das vagens de feijão-verde deve estar em torno de 90 °C para inibir a atividade da POD. Outro estudo com feijão-verde, relatou que 90% da inativação da peroxidase foi alcançada por um tratamento de branqueamento a 90 °C por 3 min, mas neste binômio houve degradação nos teores de clorofila, quando comparado com a amostra controle (leguminosa in natura)<sup>72</sup>.

Feng et al.<sup>12</sup>, estudando o efeito do branqueamento, por infravermelho catalítico, no processamento e nas características de qualidade de fatias de alho observaram que a AER (%) da peroxidase diminuía com a elevação da temperatura e com o aumento do tempo de processamento, independente da espessura da matéria-prima utilizada.

Um dos principais parâmetros utilizados para determinação e escolha do melhor binômio temperatura-tempo nos tratamentos de branqueamento é a observação da AER<sup>44</sup>. A inativação ou diminuição da atividade de enzimas durante o

aquecimento brando, influência de forma direta os processos subsequentes de conservação<sup>72</sup>.

Diversas pesquisas relatam a escolha do melhor tratamento de branqueamento de alimentos, a partir da inativação enzimática ou recomenda-se uma redução de pelo menos 90% da atividade da peroxidase<sup>12,72,73</sup>. Contudo, é importante lembrar que outros aspectos de qualidade, como cor e textura, influenciarão de forma direta para a escolha do melhor pré-tratamento, com o objetivo de garantir ao alimento as características de qualidade adequada<sup>44,73</sup>.

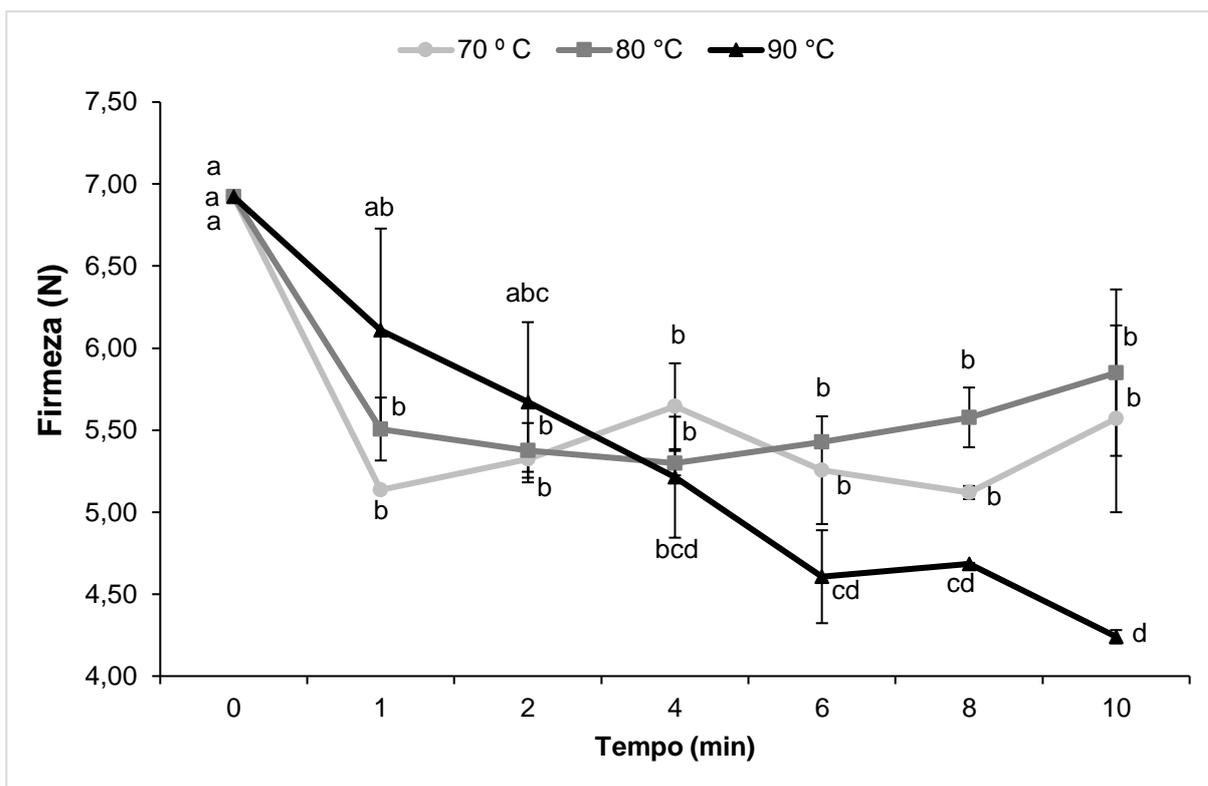
Por se tratar de um vegetal leguminoso, os grãos de feijão-verde apresentam características morfológicas sensíveis pelo grau de maturação, com tegumento frágil, sendo necessário um tratamento térmico suficiente para diminuição e/ou estabilização enzimática, pois a utilização de altas temperaturas pode comprometer consideravelmente outros aspectos sensoriais. Diante desta premissa, as condições de temperatura e tempo utilizados para o branqueamento deve ser avaliada pela especificidade de cada matéria-prima.

### **5.1.2 Propriedade de firmeza**

Na Figura 10 e Apêndice C são apresentados os valores de firmeza para amostra controle e dos dezoito ensaios de branqueamento. A amostra controle apresentou a maior propriedade de firmeza [6,92 N (0,02)], e tanto a temperatura de forma isolada como a interação temperatura-tempo exerceram efeito significativo ( $p < 0,05$ ) sobre a firmeza dos grãos, como pode ser observado no gráfico de Pareto (Figura 11). É possível evidenciar que quanto maior a temperatura maior a diminuição dessa propriedade texturométrica nos feijões-verdes, e a interação das variáveis, foi o que influenciou de forma mais significativa.

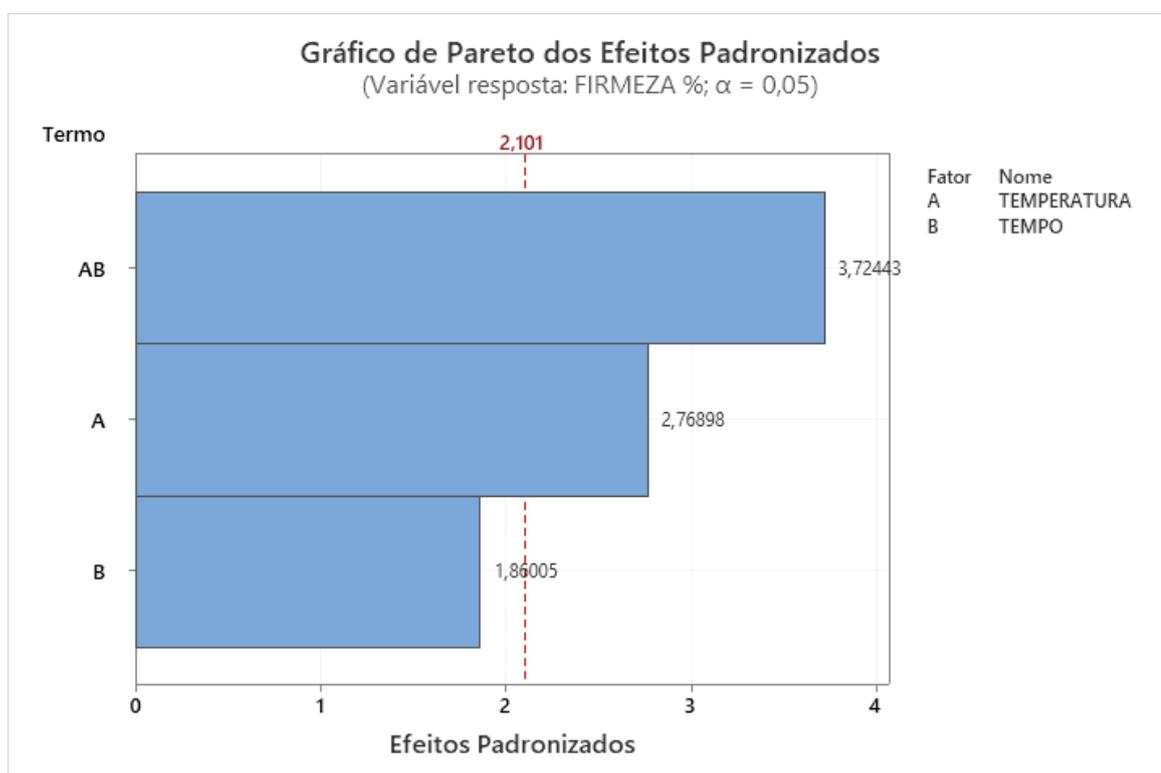
No Apêndice D, é apresentado o gráfico de interações das variáveis independentes temperatura e tempo na propriedade de firmeza dos grãos, submetidos ao branqueamento. É compreendido nos elementos representados que a interação das variáveis, foi significativamente maior a 90 °C, evidenciando uma maior diminuição da firmeza à medida que o tempo de branqueamento aumentou.

**Figura 10.** Análise da firmeza (N) da amostra controle (feijão-verde in natura) e das amostras de feijão-verde submetidos a 18 ensaios de branqueamento.



Médias de duas amostras e barra de desvio padrão. Cada amostra foi composta por 15 grãos. <sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

**Figura 11.** Gráfico de Pareto mostrando o efeito da interação das variáveis de temperatura e tempo de branqueamento na firmeza dos grãos de feijão-verde.



Este efeito na diminuição da firmeza, deve-se aos polímeros pécticos da parede celular e da lamela média que mudam durante o processamento<sup>74</sup>. Em altas temperaturas, a pectina metoxilada é predisposta a conversões não enzimáticas: despolimerização e desmetoxilação, responsável principalmente pelo amolecimento extensivo de alimentos frescos, a despolimerização  $\beta$  é afetada nos alimentos com baixo teor de ácido durante o tratamento térmico<sup>75</sup>.

Esses resultados corroboram com os relatados em pesquisa com vagens de feijão-verde branqueadas, onde a firmeza diminuiu com o tempo de processamento em micro-ondas, sendo mais intensa a perda da firmeza quanto maior o nível de potência, ou seja, com a elevação da temperatura<sup>71</sup>. Desta forma, a utilização de temperatura e tempo moderados, influenciará de forma positiva para a manutenção das propriedades de textura.

Há suposição de que o efeito menos amolecedor do branqueamento a temperaturas moderadas está relacionado à pectina metilesterase (PME). A PME é possivelmente ativada durante o pré-aquecimento e ocorre desmetilação de regiões específicas dos polímeros pécticos, o que resulta em uma quebra menor da pectina<sup>74</sup>.

Um comportamento semelhante foi encontrado para outros vegetais. Na batata, a textura degradou-se rapidamente quando a temperatura de branqueamento por radiofrequência estava acima de 80 °C<sup>44</sup>. Imaizumi, Tanaka e Uchino<sup>73</sup> descreveram que as temperaturas de 60 °C e 70 °C foram significativamente eficazes para manter a firmeza de cenouras submetidas a tratamentos térmicos leves. Lau, Tang e Swanson<sup>76</sup>, pesquisando a cinética das mudanças texturais nos aspargos verdes durante os tratamentos térmicos, obtiveram que a tensão de cisalhamento para cortar os aspargos diminuiu com o aumento do tempo e da temperatura de aquecimento, sendo as temperaturas de tratamento térmico de 70 °C e 80 °C responsáveis por uma melhor manutenção da textura e diminuição do amolecimento do vegetal.

Os resultados da perda do turgor, foi elucidada também em uma pesquisa com estudo das micrografias do alface (*Lactuca sativa* L.), onde foi observado nas imagens que as alterações físico-químicas podem ser atribuídas à destruição das membranas celulares, à diminuição da rigidez na parede celular e ao afrouxamento da adesão entre células adjacentes, com as referidas propriedades afetadas devido ao aumento da temperatura de 65-85 °C<sup>11</sup>.

A propriedade de firmeza é um atributo fundamental de qualidade na cadeia agroalimentar e a manutenção de tal propriedade é importante para a garantia de um alimento com características desejáveis. A perda de textura durante o processamento industrial desses produtos é acometida por diversos fatores, e um deles é a forma incorreta de beneficiamento<sup>73</sup>. Então, deve-se primar para que essa característica seja o mais semelhante possível às condições de textura do alimento in natura.

### **5.1.3 Efeito no ganho de massa após o tratamento de branqueamento dos grãos**

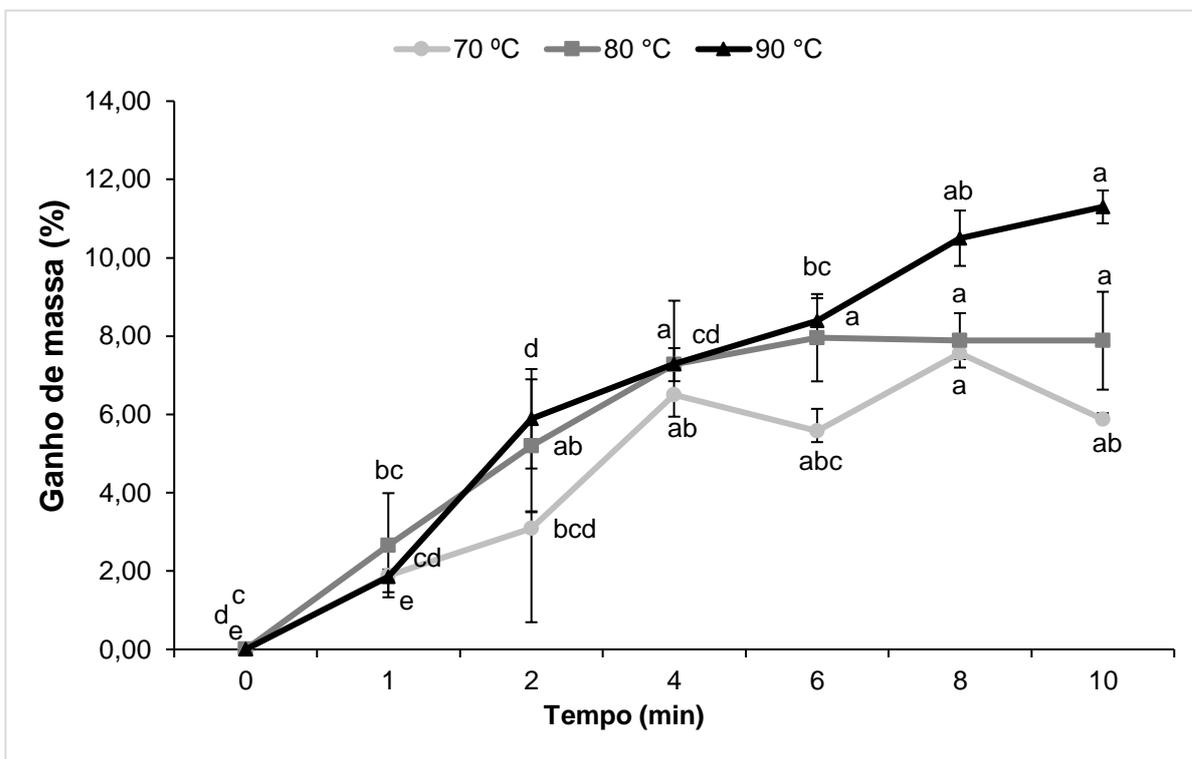
Na Figura 12 e Apêndice E, os dados demonstram que a aplicação do método de branqueamento exerceu efeito significativo ( $p < 0,05$ ) para o ganho de massa nos grãos. Independentemente da temperatura de branqueamento foi observado ganho de massa com o aumento do tempo de branqueamento. Na temperatura de 70 °C os grãos apresentaram um aumento significativo do ganho de massa, porém, nos tempos 6 e 10 houve um decréscimo, mas os dados não apresentaram diferença estatística ( $p > 0,05$ ). No entanto, é possível observar um menor ganho quando comparado com as outras temperaturas estudadas. A 80 °C ocorre um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) até 4 minutos de branqueamento e permanece sem alteração nos demais tempos. A 90 °C ocorreu o maior ganho de massa entre as temperaturas estudadas, e os dados evidenciam um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no ganho de massa com o aumento do tempo de branqueamento. A porcentagem máxima encontrada foi a 90 °C por 10 min, com 11,30%.

De acordo com os dados obtidos e análise ilustrada no gráfico de Pareto (Figura 13), observa-se que o ganho de massa foi influenciado pelo aumento do tempo e da temperatura isoladamente. Os efeitos positivos permitem inferir que quanto maior o tempo de branqueamento e a utilização de temperaturas elevadas, maior o ganho de massa. No entanto, a interação das duas variáveis não apresentou influência sobre o ganho de massa.

Este efeito é justificado pela aplicação do calor úmido durante o tratamento térmico, o que confere maior rendimento, devido à hidratação pela absorção de água nos grãos. No caso das leguminosas, a captação inicial de água, deve-se provavelmente ao preenchimento de capilares na superfície das cascas e no hilo do grão<sup>77</sup>. O maior ganho de massa em temperaturas elevadas, pode ser atribuído ao

fato de que a aplicação do calor aumenta a taxa de difusão molecular, aumentando assim, a capacidade de absorção de água nas amostras<sup>78</sup>.

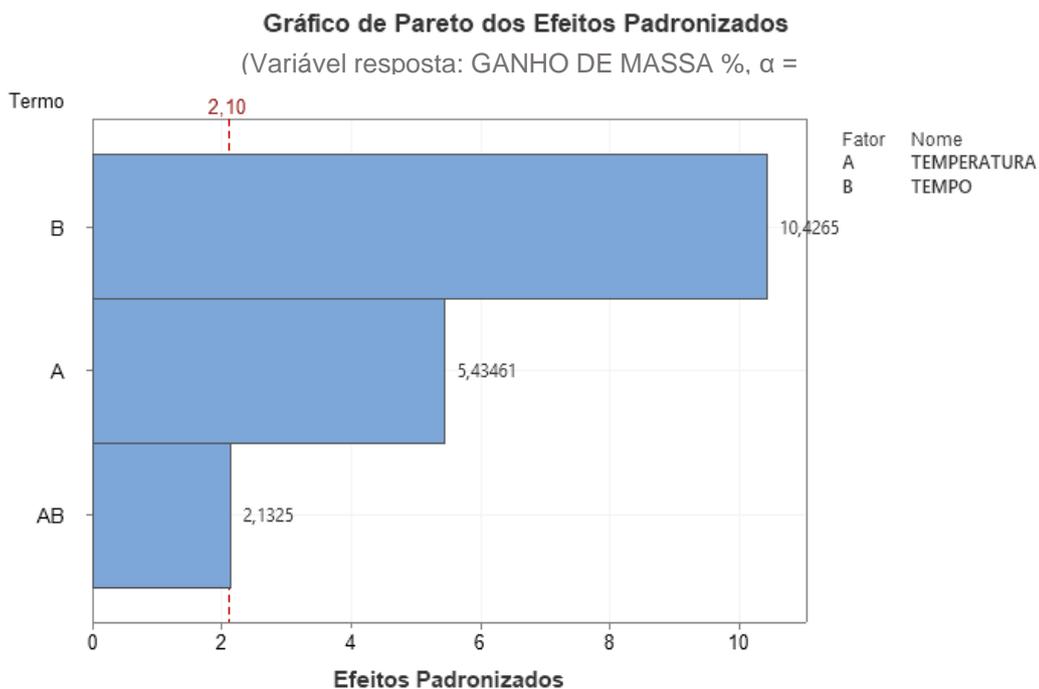
**Figura 12.** Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento no ganho de massa (%) do feijão-verde.



Médias de duas amostras e barra de desvio padrão. Cada amostra foi analisada em triplicata.

abc: Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

**Figura 13.** Gráfico de Pareto para estimativa dos efeitos das variáveis de temperatura e tempo de branqueamento sobre o ganho de massa do feijão-verde.



Li et al.<sup>79</sup>, investigando os efeitos da absorção de água da semente de soja, mostraram que a taxa de absorção de água aumentou com o aumento da temperatura de imersão, mas a utilização de altas temperaturas induzem maior perda de proteínas, no meio aquoso. Dados semelhantes foram observados por Joshi et al.<sup>80</sup>, pesquisando a absorção de água e seu impacto na textura das lentilhas (*Lens culinaris*), mostrando que as leguminosas da cultivar French-green absorveram a maior quantidade de água quando a temperatura de imersão foi elevada de 50 °C a 85 °C, atribuindo o efeito à área de superfície da semente, alto teor de proteína e tegumento relativamente mais fino.

No Brasil, não existe regulamentação técnica que limite o ganho ou perda de massa para vegetais e leguminosas beneficiadas. No entanto, sabe-se que do ponto de vista industrial, o ganho ou perda de massa de vegetais de 10 a 15% são considerados aceitáveis para a lucratividade do processo<sup>71</sup>. Na presente pesquisa, o ganho de massa máximo de 11,30% está na faixa aceitável, porém outros fatores de qualidade devem ser considerados quando se trabalha com grãos imaturos, principalmente a firmeza, quando correlacionado com o ganho de massa. De acordo com o Apêndice F, a correlação de Pearson apresentou um coeficiente  $r = -0,64$  e  $p < 0,0001$ , evidenciando que quanto maior o ganho de massa, menor é a firmeza do grão, pois a intumescência causada pela absorção água diminui, conseqüentemente, a consistência.

Kader<sup>81</sup> estudando os fatores que afetam a absorção de água pelos feijões durante a imersão, afirmou que a temperatura afetou significativamente a absorção de água e, em temperaturas mais altas, a água foi absorvida rapidamente devido ao aumento da taxa de difusão. Outra elucidação leva em consideração que temperaturas mais elevadas promovem lesão da membrana celular e alterações na estrutura da pectina nas paredes celulares dos vegetais, afetando a permeabilidade e facilitando a absorção da água<sup>82</sup>.

O estudo que avaliou a textura (dureza) das lentilhas em razão da absorção de água, apontou que os índices de dureza nas cultivares Boomer, French-green e Nugget a 85 °C após 75 min de imersão foram reduzidos para 5,66%, 3,53% e 6,77%, respectivamente, em comparação com as amostras controle, e o efeito estava relacionado com a quantidade de absorção de água e a temperatura de imersão usada<sup>80</sup>.

Desta forma, devem ser evitados tratamentos de branqueamento em imersão com temperatura e tempo excessivo, com o objetivo preservar as características de qualidade dos grãos de feijões-verdes.

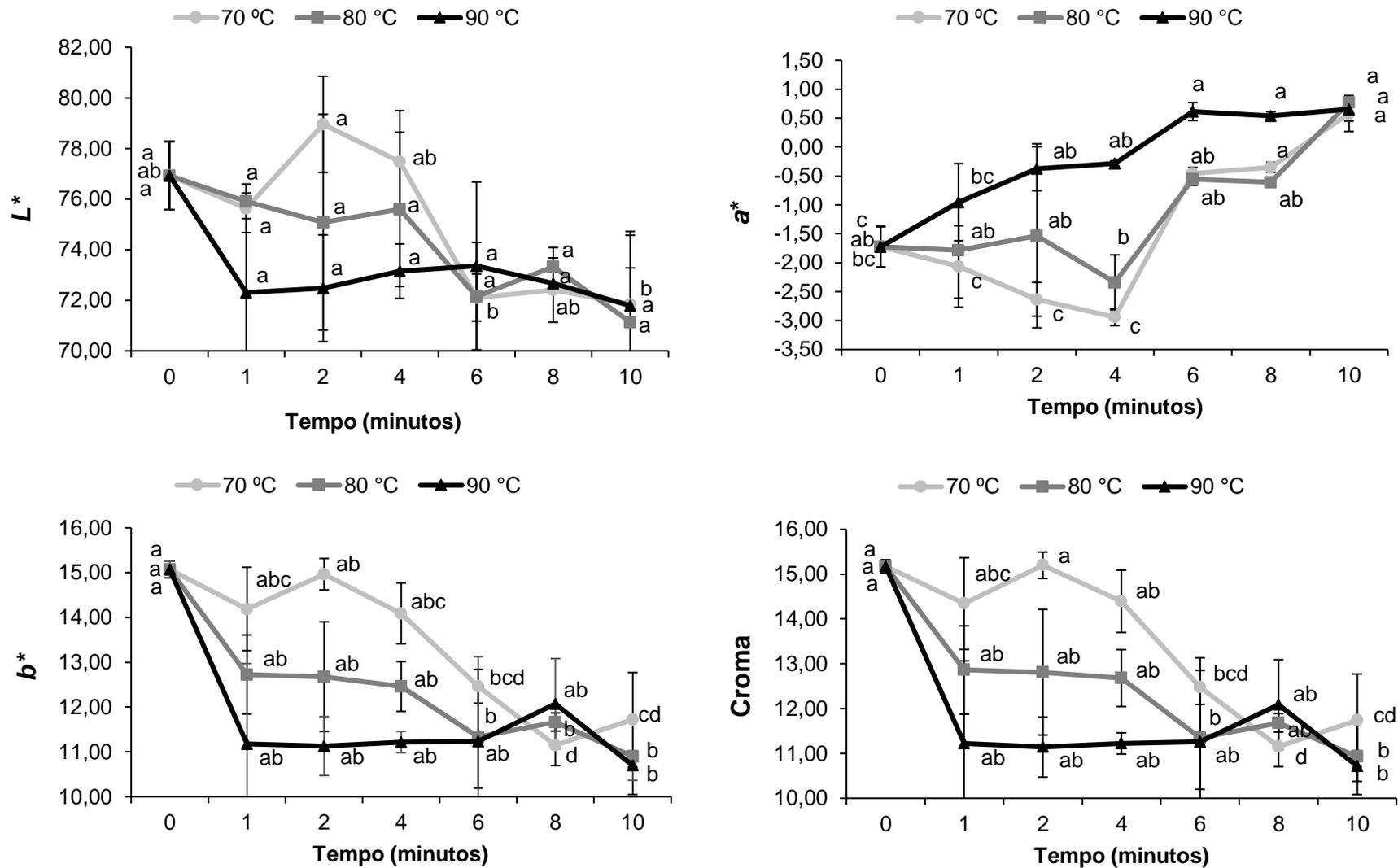
#### 5.1.4 Efeito do branqueamento na propriedade de cor do feijão-verde

Os valores das características de cor analisadas são apresentados na Figura 14 e Apêndice G. A cor CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  da amostra controle (feijão-verde in natura) apresentou valores de 76,93 (1,35); -1,73 (0,35) e 15,07 (0,18), respectivamente. Conforme os dados exibidos, com a elevação da temperatura e do tempo de branqueamento, os grãos vão se tornando mais escuros e opacos, o que corresponde a uma diminuição dos valores de  $L^*$ ; valores de  $a^*$  mais positivos, indicando a perda da tonalidade verde e  $b^*$  com números mais baixos, ou seja, com uma matiz mais azulada, o que causa o escurecimento do grão. Esse fenômeno provavelmente ocorreu em decorrência do colapso celular e à exsudação de líquidos, induzindo uma menor refletância da amostra<sup>44</sup>.

A clorofila é o principal pigmento encontrado no feijão-verde, e a cor verde é altamente suscetível à degradação durante o processamento<sup>72</sup>. O dano causado durante o tratamento de branqueamento, deve-se a conversão da clorofila em feofitina e feoforbida, o que resulta em uma mudança de verde brilhante para verde-oliva opaco<sup>83</sup>. Ruiz-Ojeda e Peñas<sup>71</sup> encontraram que durante o tratamento térmico por micro-ondas, as vagens de feijão-verde que foram submetidas a uma potência mais alta, ou seja, maior temperatura apresentavam uma maior diferença de cores, tornando a matéria-prima mais escurecida. Lau, Tang e Swanson<sup>76</sup> realizando uma pesquisa com aspargos verdes, identificaram que o aquecimento superior a 80 °C fez com que a cor das lanças mudassem de verde brilhante para marrom-oliva, o que é atribuído à feofitinação.

A menor intensidade da cor foi notada em condições extremas de tratamento. Esse efeito é evidenciado nos valores do croma, onde observa-se uma menor saturação, com a elevação da temperatura e do tempo.

**Figura 14.** Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento nos índices de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e croma) do feijão-verde.



Médias de duas amostras e barra de desvio padrão. Cada amostra foi analisada em triplicata.

abc. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

Esse processo de alteração da cor pode ser elucidado, não só pela alteração dos pigmentos, mas concomitantemente pela ação não enzimática que envolve compostos fenólicos como substratos, interação de íons metálicos com compostos fenólicos e reação de Maillard<sup>84</sup>.

Os maiores valores do croma foram observados no binômio 70 °C – 2 min e 70 °C – 4 min com valores de 15,20 e 14,39, respectivamente. Quanto mais altos os valores do indicador croma, mais desejável é o produto alimentar, pois demonstra uma maior intensidade e saturação da cor<sup>13</sup>. Severini et al.<sup>85</sup> estudando a influência de diferentes métodos de branqueamento na cor dos brócolis, notaram que as amostras branqueadas em água quente e vapor apresentaram um aumento inicial na cor verde, quando comparado com o tratamento por micro-ondas, com valores de croma mais positivos.

A intensidade do pigmento clorofila do feijão-verde, foi analisada de forma particular, pelo sistema de coordenadas do índice  $a^*$ . Segundo a Figura 14, os melhores resultados foram notados nos binômios 70 °C – 2 min e 70 °C – 4 min, pois apresentaram um  $a^*$  mais negativo, ou seja, com uma gradação mais acentuada para o verde. Nestes binômios citados, os valores de  $L^* = 78,95 (1,90)$  e  $77,47 (2,02)$  e  $a^* = -2,63 (0,29)$  e  $-2,94 (0,15)$ , respectivamente, foram melhores quando comparados com a amostra controle (FVI), o que tornou o feijão-verde branqueado (FVB) com uma melhor aparência e tom verde mais visível e brilhante, conforme Figura 15.

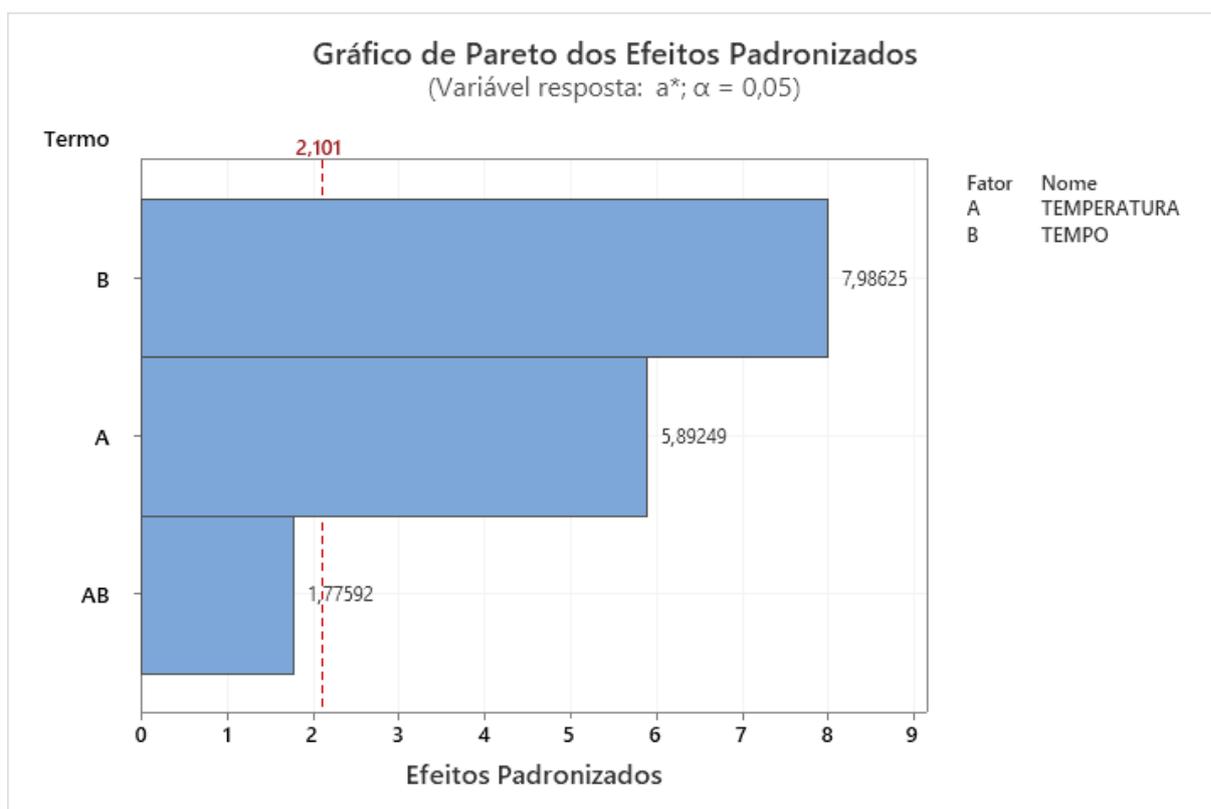
**Figura 15.** Comparação dos índices de cor em grãos de feijão-verde. 1 (feijão-verde in natura) 2 (feijão-verde branqueado a 70 °C-2 min) e 3 (feijão-verde branqueado a 70 °C-4 min).



Fonte: Arquivo pessoal.

Analisando a Figura 16, observa-se que a temperatura e o tempo separadamente exerceram efeitos significativos no índice  $a^*$ . Estes efeitos positivos das variáveis independentes, demonstram que quanto maior o tempo de processamento e temperatura utilizada, mais positivos são os valores do índice  $a^*$  da amostra em estudo, representando a diminuição da tonalidade verde e maior opacidade dos grãos.

**Figura 16.** Gráfico de Pareto para estimativa dos efeitos das variáveis de temperatura e tempo de branqueamento sobre o índice  $a^*$  na cor do feijão-verde.



A propriedade de cor é um dos principais indicadores utilizados para avaliar a intensidade do tratamento térmico e prever a degradação da qualidade apropriada causada pelo método de branqueamento, porque alterações neste parâmetro podem levar à diminuição de aceitação pelo consumidor, como também, provocar desvalorização comercial<sup>10</sup>.

Os melhores índices da cor verde foram atribuídas à expulsão do ar retido nos tecidos vegetais ao redor da superfície do alimento, o que produz uma alteração nas propriedades refletivas do vegetal<sup>76</sup>. Outra possibilidade é que, nos produtos frescos, com o tratamento térmico adequado, ocorra gradualmente uma destruição da

membranas celulares, resultando no contato entre as enzimas e os compostos precursores de clorofila presentes em diferentes organelas, e o feito geral é que a cor verde é acentuada durante os primeiros períodos de tratamento térmico brando<sup>86</sup>.

Os valores foram semelhantes com pesquisas realizadas com alimentos que contém a clorofila como principal pigmento. No branqueamento por imersão em água quente de brócolis e vagens de feijão, os pesquisadores observaram que a cor aumentou de nível nos primeiros períodos de tratamento, tornando as amostras mais esverdeadas<sup>86</sup>. A percepção de cor das vagens de feijão durante o período inicial de branqueamento (baixas temperaturas, por tempos curtos) em micro-ondas foi a de modificação da cor da matéria-prima de verde opaco para verde claro, proporcionando dados de cor semelhantes às obtidas com o tratamento convencional de branqueamento por imersão<sup>71</sup>.

### **5.1.5 Estudo cinético**

#### **5.1.5.1 Estudo dos parâmetros cinéticos na atividade enzimática da peroxidase (POD) do feijão-verde, após processo de branqueamento.**

Os resultados experimentais da atividade enzimática da peroxidase do feijão-verde, após processo de branqueamento, se ajustaram bem ao modelo cinético de primeira ordem, com alto coeficiente de determinação ( $R^2$ ) em todas as temperaturas estudadas, apresentando valores de 0,856 a 0,990 (Tabela 2 e Figura 17). Assim, é possível confirmar que a dependência da temperatura para a desnaturação da enzima apresenta uma forte correlação.

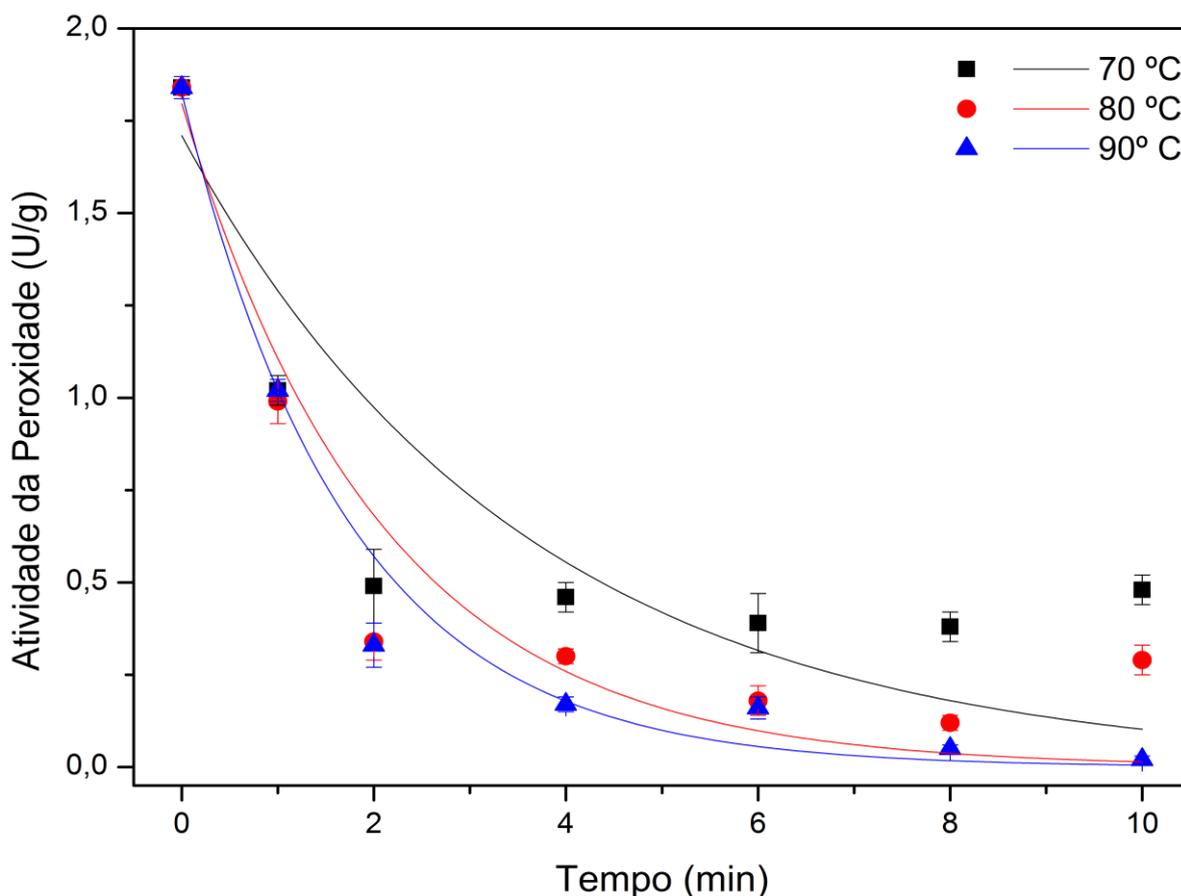
A elevação da temperatura de branqueamento levou ao aumento da constante cinética  $k$ , variando de 0,281 a 0,581, nas temperaturas de 70, 80 e 90 C°, evidenciando uma diminuição mais acentuada na atividade da POD quando os grãos foram submetidos a temperatura mais elevada. A elevação da constante  $k$  demonstra, também, o comportamento descrito pela equação de Arrhenius.

**Tabela 2.** Parâmetros cinéticos de primeira ordem para estimativa da desnaturação da peroxidase (U/g) do feijão-verde, submetidos ao branqueamento em diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	$C_0$ (U/g)	$k$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$	$E_a$ (kJ/mol)
70	1,71 (0,18)	0,281 (0,084)	0,856	
80	1,80 (0,15)	0,484 (0,082)	0,952	36,95
90	1,83 (0,08)	0,581 (0,057)	0,990	

Médias de duas amostras. Cada amostra foi analisada em triplicata. Os valores expressos são: média (erro padrão).  $C_0$  - valor inicial do fator de qualidade;  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ) - constante de velocidade da reação na temperatura utilizada.  $R^2$  - coeficiente de determinação.  $E_a$  (kJ/mol) - Energia de ativação.

**Figura 17.** Efeito do branqueamento sob a desnaturação na atividade da peroxidase (U/g) do feijão-verde, em diferentes binômios temperatura-tempo.



Legenda: Os símbolos correspondem aos dados médios de duas amostras. Cada amostra foi analisada em triplicata. As linhas são os modelos cinéticos de primeira ordem.

Bernstein e Noreña<sup>57</sup>, investigando a cinética de inativação enzimática da peroxidase na couve roxa, observaram que os valores da constante cinética  $k$  aumentaram com a elevação da temperatura de branqueamento. Comportamento

semelhante foi observado com a pesquisa com brócolis, a fração  $k_r$  (resistente ao calor) e  $k_i$  (termolábil) foram elevadas de 2,41-6,45 e 1,66-3,26, respectivamente, nas temperaturas de 70 a 90 °C<sup>32</sup>. Wawire e autores<sup>87</sup> observaram parâmetros cinéticos estimados para inativação térmica da POD em folhas de feijão-caupi, e corroboram que os valores de  $k$  aumentaram com o aumento da temperatura (75-100 °C).

O valor obtido para a energia de ativação da peroxidase (U/g) do presente estudo foi de 36,95 kJ/mol. Até o momento, não é reconhecido nenhum dado de  $E_a$  para grãos de feijão-verde, mas os valores são consistentes e próximos com os relatados na literatura para diferentes fontes vegetais e processos de branqueamento. Vagens de feijão-verde branqueadas, apresentaram uma  $E_a$  de 48,34 kJ/mol<sup>71</sup> para a diminuição da atividade da POD. A cinética de inativação térmica da peroxidase do pericarpo do mangostão, exibiu um energia de ativação de 35,06 kJ/mol<sup>88</sup>. Esses dados de  $E_a$  podem variar de acordo com o diâmetro da amostra<sup>56</sup>, do tratamento térmico empregado<sup>46</sup>, como também pela especificidade e propriedades físico-químicas das diferentes fontes vegetais.

#### 5.1.5.2 Análise cinética do efeito do branqueamento na firmeza

A diminuição da firmeza, após o processo de branqueamento no feijão-verde seguiu uma reação cinética de primeira ordem. A boa qualidade do ajuste dos dados ao modelo pode ser visualizada pelos valores de  $R^2$  e pelo comportamento de  $k$ , segundo a Tabela 3. Na Figura 18 são plotados os dados médios do efeito do branqueamento na firmeza do feijão-verde, nos diferentes binômios temperatura-tempo, e a linha do modelo cinético apresentada.

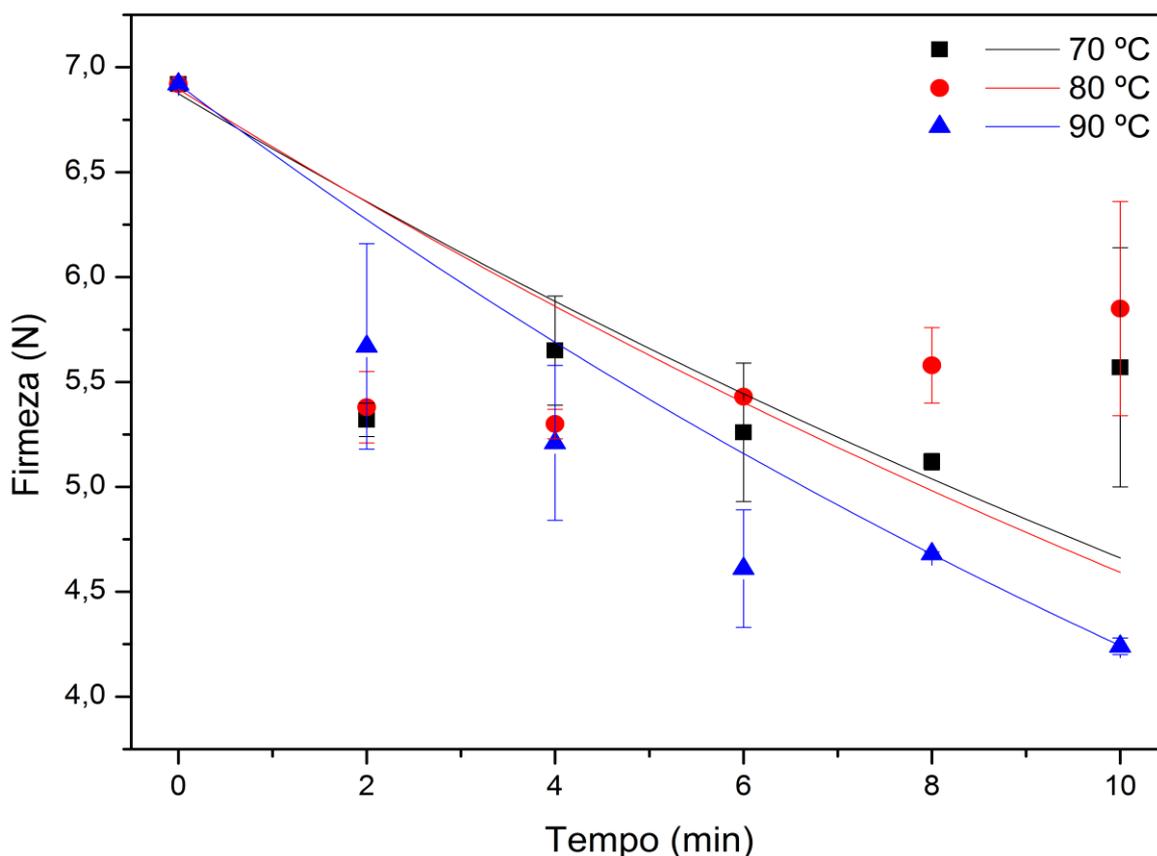
A dependência da constante de velocidade ( $k$ ) com a temperatura para a firmeza, foi bem descrita pela equação de Arrhenius. Os valores obtidos foram de  $3,89 \times 10^{-2}$  (70 °C)  $4,07 \times 10^{-2}$  (80 °C) e  $4,89 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  (90 °C), revelando que a temperatura de 70 °C apresentou menor efeito na diminuição da firmeza, seguido da temperatura a 80 °C com uma velocidade intermediária para reação, e a 90 °C com a maior velocidade de reação para a diminuição da firmeza dos grãos. Dessa forma, observa-se que esse atributo de qualidade, foi sendo degradado com o aumento da temperatura do processamento térmico.

**Tabela 3.** Parâmetros cinéticos de primeira ordem na diminuição da firmeza (N) do feijão-verde, submetidos ao branqueamento em diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	$C_0$ (N)	$k$ ( $\text{min}^{-1}$ ) $\times 10^{-2}$	$R^2$	$E_a$ (kJ/mol)
70	6,87 (0,13)	$3,89 \times 10^{-2}$ ( $0,70 \times 10^{-2}$ )	0,903	
80	6,90 (0,11)	$4,07 \times 10^{-2}$ ( $0,42 \times 10^{-2}$ )	0,960	11,60
90	6,92 (0,03)	$4,89 \times 10^{-2}$ ( $0,058 \times 10^{-2}$ )	0,999	

Médias de duas amostras. Cada amostra foi composta por 15 grãos. Os valores expressos são: média (erro padrão).  $C_0$  - valor inicial do fator de qualidade;  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ) - constante de velocidade da reação na temperatura utilizada.  $R^2$  - coeficiente de determinação.  $E_a$  (kJ/mol) - Energia de ativação.

**Figura 18.** Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento do feijão-verde, sob a propriedade de firmeza (N).



Legenda: Os símbolos correspondem aos dados médios de duas amostras. Cada amostra foi analisada em triplicata. As linhas são os modelos cinéticos de primeira ordem.

Segundo Jaiswal, Gupta e Abu-Ghannam<sup>13</sup>, para avaliação dos efeitos do branqueamento nas propriedades de textura do repolho, os dados ajustaram-se bem a equação cinética de primeira ordem com dependência da temperatura, onde o  $k$  aumentou de 0,042 para 0,146  $\text{min}^{-1}$  quando a aplicação do calor elevou a

temperatura de 80 para 100 °C. Considerações cinéticas semelhantes foram observadas no estudo com nabo e beterraba, visto que todas as propriedades texturiais avaliadas (firmeza, elasticidade e rigidez) diminuíram com o aumento da temperatura (70, 80, 90, 95 e 100 °C) e o valor de  $k$  aumentou progressivamente com a elevação da temperatura para os dois vegetais estudados e para os três parâmetros avaliados<sup>89</sup>.

A energia de ativação resultante para o feijão-verde branqueado na propriedade de firmeza foi de 11,60  $\text{kJ/mol}$ . O valor foi significativamente menor quando comparado com outras fontes vegetais, como da vagem de feijão-verde (49,66  $\text{kJ/mol}$ )<sup>71</sup>, de Aspargo (24,05  $\text{kJ/mol}$ )<sup>76</sup> e do repolho (33,8  $\text{kJ/mol}$ )<sup>13</sup>, o que evidencia que essa característica de qualidade no feijão-verde é altamente sensível ao calor, sendo favorável a aplicação de temperaturas brandas para uma menor perda da firmeza. A falta de semelhança nos dados da  $E_a$  para firmeza, pode ser sugerida pela diferença dos métodos de branqueamento aplicados na preparação da amostra, pelos diferentes métodos de medição texturiais<sup>76</sup> e pelo tipo de vegetal estudado.

#### 5.1.5.3 Avaliação dos parâmetros cinéticos na mudança de cor

Os dados experimentais ajustaram-se satisfatoriamente ao modelo cinético de primeira ordem. Os valores do croma, demonstram a saturação e intensidade na cor da amostra estudada. Os resultados dos parâmetros cinéticos para mudanças de cor do feijão-verde estão expressos na Tabela 4. Os valores do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) confirmam o ajuste ao modelo.

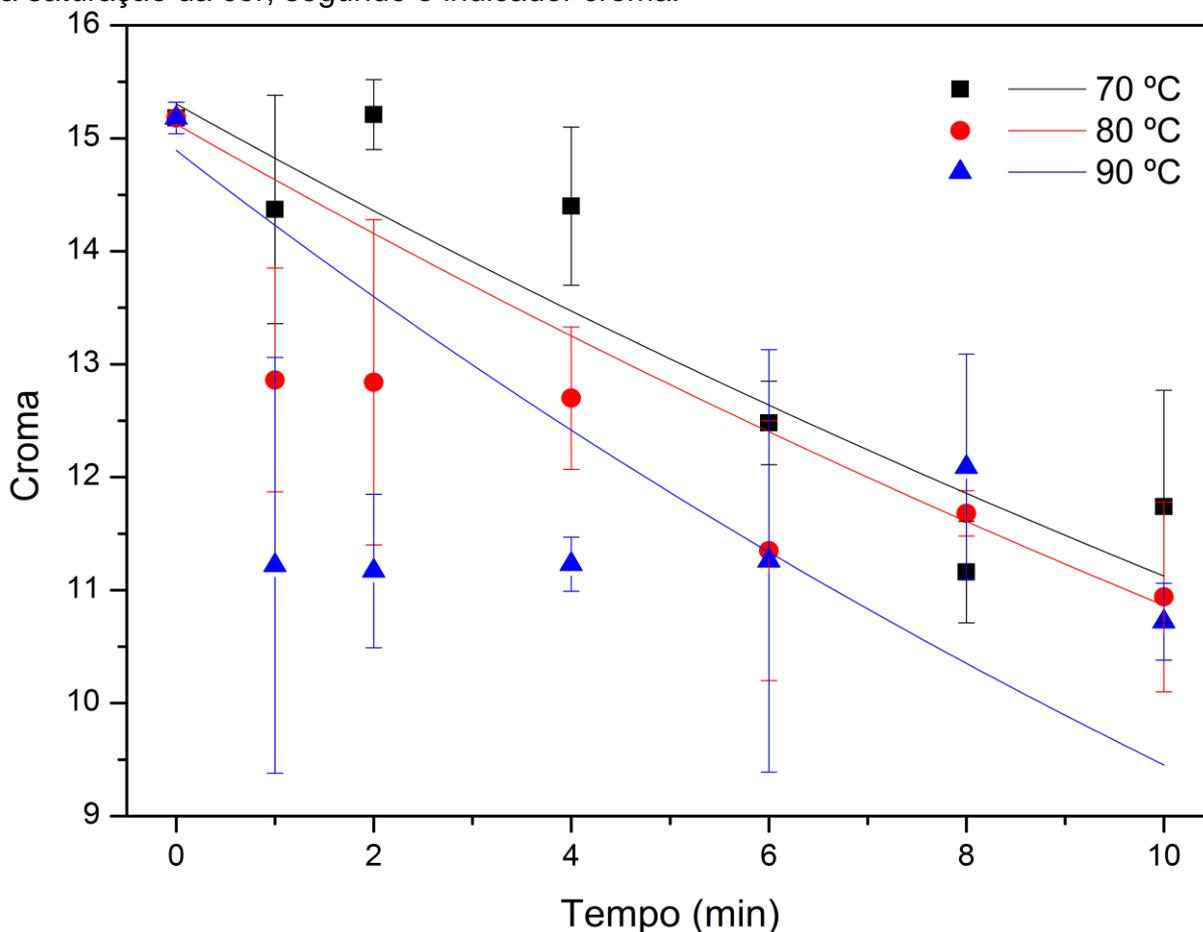
**Tabela 4.** Parâmetros cinéticos de primeira ordem na mudança de cor do feijão-verde, submetidos ao branqueamento em diferentes temperaturas, utilizando o indicador croma.

Temperatura (°C)	$C_0$ (N)	$k$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$	$E_a$ ( $\text{kJ/mol}$ )
70	15,30 (0,22)	0,032 (0,005)	0,890	
80	15,13 (0,15)	0,033 (0,003)	0,974	17,12
90	14,89 (0,47)	0,045 (0,011)	0,806	

Médias de duas amostras. Cada amostra foi analisada em triplicata. Os valores expressos são média (erro padrão).  $C_0$  - valor inicial do fator de qualidade;  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ) - constante de velocidade da reação na temperatura utilizada.  $R^2$  - coeficiente de determinação.  $E_a$  ( $\text{kJ/mol}$ ) - Energia de ativação.

Analisando a Figura 19, observa-se que o branqueamento teve um efeito significativo no cromá, e que conforme o tempo de processamento e a temperatura aumentaram, o valor do cromá diminuiu. A constante  $k$  aumenta de 0,032 para 0,045  $\text{min}^{-1}$  com um aumento na temperatura de 70 para 90 °C, descrevendo que há uma dependência da velocidade de reação com a temperatura, gerando grãos de feijão-verde com uma matiz escura, quando se utiliza altas temperaturas e/ou tempo excessivo de processamento. Desta forma, o estudo cinético demonstrou que a utilização de temperatura e tempo brandos favorecem a manutenção de intensidade e melhor aparência da amostra estudada. O branqueamento a 70 °C nos tempos de 2 e 4 minutos apresentou os maiores valores de cromá, indicando a saturação da cor, e esse efeito foi confirmado pela constante  $k$ .

**Figura 19.** Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento do feijão-verde sobre a saturação da cor, segundo o indicador cromá.



Legenda: Os símbolos correspondem aos dados médios de duas amostras. Cada amostra foi analisada em triplicata. As linhas são os modelos cinéticos de primeira ordem.

A energia de ativação foi calculada através da regressão linear do logaritmo natural da constante cinética  $k$  em função do inverso da temperatura de branqueamento, o que resultou no valor de  $17,12 \text{ kJ/mol}$ . A  $E_a$  estimada indica que a variação nas propriedades de cor, com base no índice croma, é sensível a temperatura de branqueamento.

Jaiswal, Gupta e Abu-Ghannam<sup>13</sup>, considerando o modelo de ordem zero para análise do efeito do branqueamento no croma de repolho York, descreveram que o valor de  $k$  aumentou de  $0,543$  para  $0,756 \text{ min}^{-1}$  com a elevação da temperatura de  $80$  para  $100 \text{ °C}$ , e que o valor do croma diminuiu expressivamente, quando a temperatura e o tempo de processamento aumentaram, apresentando uma energia de ativação de  $15,73 \text{ kJ/mol}$ . Vinã et al.<sup>90</sup>, estudando o efeito do branqueamento em couve de Bruxelas, corroboraram que o aumento do tempo e da temperatura de processamento nas amostras diminuíram a tonalidade verde, mudando de verde vivo para um verde opaco.

Na pesquisa realizada por Gonçalves et al.<sup>54</sup>, investigaram as mudanças físicas de cenouras submetidas ao branqueamento, e notaram que conforme a temperatura e o tempo de processamento aumentavam, as cenouras tornavam-se mais escuras, e que os dados experimentais se ajustaram ao modelo de Arrhenius de primeira ordem, nos parâmetros de cor.

### **5.1.6 Definição das condições ideais de branqueamento**

Diante dos resultados dos efeitos e do estudo cinético, anteriormente expostos, sobre as variáveis respostas: redução da atividade enzimática, firmeza, ganho de massa e cor, é possível inferir que o tratamento térmico com temperatura e tempo moderado, pode ser considerado como o conjunto de condições mais adequadas, dentre as que foram testadas, para branqueamento do feijão-verde. Com o objetivo de garantir as características físicas de firmeza e cor na amostra branqueada, as condições ideais de branqueamento foram observadas no tratamento a  $70 \text{ °C}$  por 4 minutos. Esse binômio experimental apresentou uma AER% de  $25,13$ , significativamente menor que a atividade da amostra controle e, apesar da atividade relativa da enzima POD ser mais reduzida prolongando o binômio temperatura-tempo, os atributos de qualidade foram comprometidos com a intensificação do

processamento, tornando os grãos com firmeza comprometida e amostras com cor escura.

Pérez-Calderón et al.<sup>32</sup> afirmaram que a enzima peroxidase, é uma das mais termoestáveis, o que facilita a utilização para detecção da temperatura e tempo mais adequada de processamento. No entanto, o branqueamento até a inativação da POD, na maioria das vezes, ocasiona processamento excessivo com danos desnecessários na qualidade do produto<sup>85</sup>.

Portanto, a escolha do melhor binômio temperatura e tempo para o processo de branqueamento não deve ser limitado a inativação enzimática. É importante incluir, também, a avaliação da manutenção das propriedades físicas de cor e firmeza, pois esses atributos estão diretamente relacionados à percepção dos padrões de qualidade pelo consumidor. O ensaio 3 (70 °C-4 min) apresentou menor perda da firmeza, um ganho de massa moderado, não comprometendo a consistência da matéria-prima e a cor mais saturada e com  $a^*$  mais negativo, indicando a intensificação da tonalidade verde nos grãos. Assim, esta condição de branqueamento foi adotada na fase 2 do estudo, para a determinação da vida de prateleira do produto armazenado sob refrigeração

## 5.2 FASE 2 – DETERMINAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA DO PRODUTO ARMAZENADO SOB REFRIGERAÇÃO

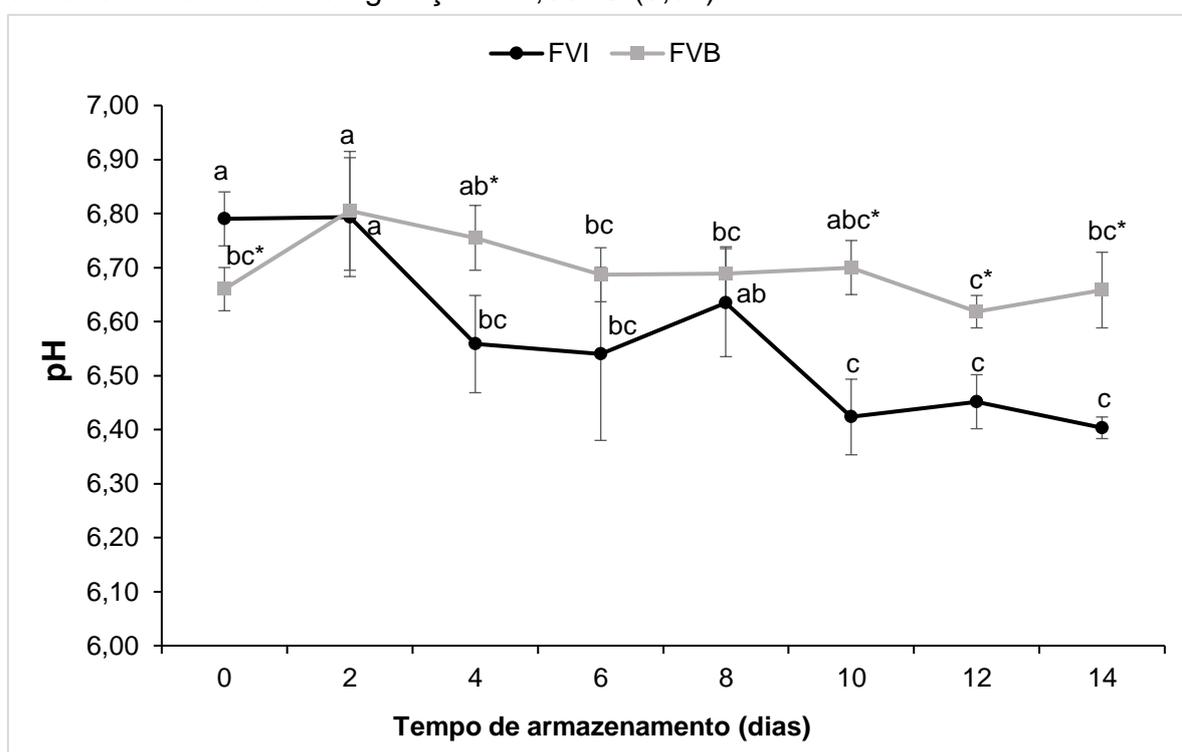
### 5.2.1 Análise físico-química do feijão-verde durante o período de armazenamento sob refrigeração

A variação no valor de pH no tempo de armazenamento do feijão-verde in natura (FVI – amostra controle) e feijão-verde branqueado (FVB) estão apresentados na Figura 20 e Apêndice H. Os dados permitem inferir que durante o período de armazenamento refrigerado o FVI apresentou uma maior instabilidade quanto ao pH, com uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) a partir de 4 dias de armazenamento, chegando a uma estabilidade do pH a partir do dia 10, mas com um decréscimo considerável, quando comparado com o valor inicial. Essa diminuição do pH da amostra controle mostra a acidificação do feijão, provavelmente em decorrência do processo de senescência e/ou crescimento microbiano.

O pH do FVB no dia 0 diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) da amostra controle, com valor menor. No entanto, com 2 dias de armazenamento apresentou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) que permaneceu sem grandes alterações até o fim do período de armazenamento, ficando significativamente ( $p < 0,05$ ) maior que o pH do FVI nos tempos 4, 10, 12 e 14. Desta forma, com os valores de pH apresentados na presente pesquisa, é possível classificar esta matéria-prima como um alimento de baixa acidez.

A diminuição inicial do pH em decorrência do processo de branqueamento, pode ter ocorrido devido o processo de imersão em água aquecida a 70 °C. De acordo com Fellows<sup>51</sup>, os íons de hidrogênio positivamente carregados podem movimentar-se de uma molécula de água para outra, e o pH é a medida de íons  $H_3O^+$  presentes na solução. Outra elucidação é que a água quando exposta ao ar, absorve dióxido de carbono e que reage parcialmente, formando  $HCO_3^-$  (bicarbonato) e  $H^+$ , podendo acarretar a diminuição do pH. A partir do segundo dia, o equilíbrio químico em meio aquoso propiciou a elevação do potencial hidrogeniônico da amostra FVB, tornando-a semelhante ao valor de pH inicial da matéria-prima in natura.

**Figura 20.** Comportamento do potencial hidrogeniônico (pH) no feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB) a 70 °C por 4 min, durante o período de armazenamento sob refrigeração a 4,90 °C (0,32).



Médias de duas amostras e barra de desvio padrão. Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

\* Médias seguidas de asterisco, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) do controle (FVI) segundo o teste t.

O valor de pH inicial do FVI 6,79 (0,05) é semelhante aos achados por Silva et al.<sup>91</sup>, que ao avaliarem a qualidade pós-colheita de grãos verdes de diferentes cultivares de feijão-caupi irrigado, encontraram resultados que variaram entre 6,86 a 7,20 a depender do tipo de cultivar analisado.

Furtunato, Magalhães e Maria<sup>23</sup>, pesquisando tecnologias alternativas de processamento do feijão-verde (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), estudaram o processo de congelamento do mesmo, pelo período de 180 dias. Dados similares de pH foram obtidos, no dia 0 o pH foi 6,87, e não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos dias de armazenamento.

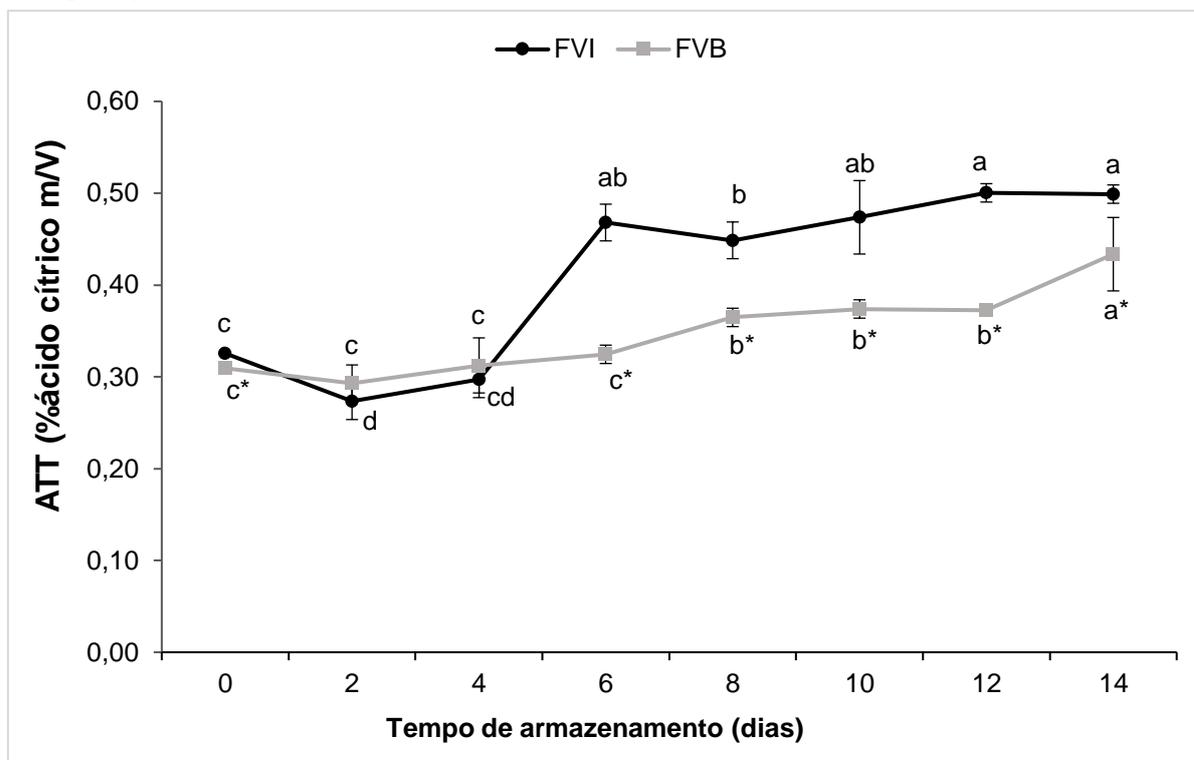
Na análise da acidez total titulável (ATT) apresentados na Figura 21 e Apêndice H, verificou-se que as amostras FVI e FVB exibiram teores de baixa acidez, corroborando com os resultados do pH. A partir do dia 6 o FVI apresentou uma elevação significativa ( $p < 0,05$ ) na ATT, sendo equivalente a diminuição do pH observado para o mesmo período, que demonstrou uma acidificação significativa ( $p < 0,05$ ) na amostra, quando comparado com o período inicial e com a amostra branqueada. Os teores de acidez para a amostra FVB, não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) até o sexto dia de análise, tendo uma variação no dia 8 e mantendo-se estável até o dia 12, diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) no período final de 14 dias de armazenamento. No entanto, a amostra FVB difere significativamente ( $p < 0,05$ ) do controle (FVI) a partir do dia 6, sendo mais uma vez evidenciada uma estabilidade da ATT no FVB e uma acidificação do FVI quando comparado com o FVB.

A análise da acidez pode fornecer informações valiosas na apreciação do estado de conservação do alimento. O processo de deterioração, seja por hidrólise, contaminação bacteriana, oxidação ou fermentação, pode ocasionar alterações nos íons de hidrogênio<sup>64</sup>.

Vieira<sup>92</sup>, pesquisando a qualidade química de oito cultivares de feijão-caupi verde, observou que as amostras cruas apresentavam uma baixa acidez, tendo como valores uma variação de 0,23 a 0,44 g/100g de ácido cítrico, a depender do tipo de cultivar. Tendências similares de acidez titulável foram observadas por Silva et al.<sup>91</sup>,

onde as médias de acidez total titulável não registraram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre as oito cultivares avaliadas, que apresentaram ATT de 0,27 – 0,33 % ácido cítrico (p/v).

**Figura 21.** Variação da Acidez Total Titulável (ATT) em % de ácido cítrico m/V, no feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB), armazenado sob refrigeração a 4,90 °C (0,32).



Médias de duas amostras e barra de desvio padrão. Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

\* Médias seguidas de asterisco, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) do controle (FVI) segundo o teste t.

Nas propriedades bioquímicas do alimento, a maior parte das reações ocorrem durante o período de processamento e armazenamento, assim, a determinação da acidez titulável em conjunto com a análise de pH em grãos de feijão são parâmetros que podem contribuir para a garantia da qualidade e segurança microbiológica destes produtos<sup>93</sup>.

Devido à baixa acidez desta matéria-prima, é importante o controle ou utilização de técnicas com o intuito de estabilizar essas alterações na qualidade microbiológica. Pois, o pH ótimo para a maioria das espécies bacterianas é de 6,0 a 7,0<sup>51</sup>.

### 5.2.2 Análise microbiológica para o estudo da vida útil

As análises da amostra controle (FVI), foram realizadas até o oitavo dia, em razão deterioração dos grãos e pela alta contaminação por coliformes termotolerante, bactérias mesófilas e psicrótróficas. As análises da amostra tratada termicamente (FVB), foram executadas até o décimo quarto dia. Segundo os padrões microbiológicos exigidos na IN nº 6070, o feijão-verde in natura e a amostra branqueada, encontravam-se com resultados satisfatórios e com qualidade aceitável durante todo período de armazenamento, atendendo aos padrões microbiológicos de ausência de *Salmonella* em 25 g e contagem de *E. coli* < 3,0 NMP/g.

As amostras analisadas, também não apresentaram contaminação por Estafilococos coagulase positiva/g, durante todo o período de armazenamento sob refrigeração analisado. Esses resultados foram favoráveis e indicam que não houve contaminação pós-processo.

De acordo com a Tabela 5, é possível verificar a alta contaminação das amostras FVI por coliformes a 45 °C a partir do dia 2, indicando a capacidade de recuperação de células injuriadas, após um curto período de tempo, e essa contaminação provavelmente ocorreu por condições de higiene inadequadas durante o processo de debulha e/ou ensacamento do feijão-verde. O binômio temperatura-tempo (70 °C - 4 min) aplicado no branqueamento do feijão-verde, mostrou ser eficaz para a inativação deste grupo de microrganismo e, foi um indicador favorável das condições de higiene do processo de pré-tratamento térmico e envase das amostras. Os coliformes são facilmente destruídos pelo calor e não devem sobreviver ao tratamento térmico e, conseqüentemente, ao período de armazenamento, pois a presença desses microrganismos pode ser indicativo de contaminação pós-processo<sup>94</sup>.

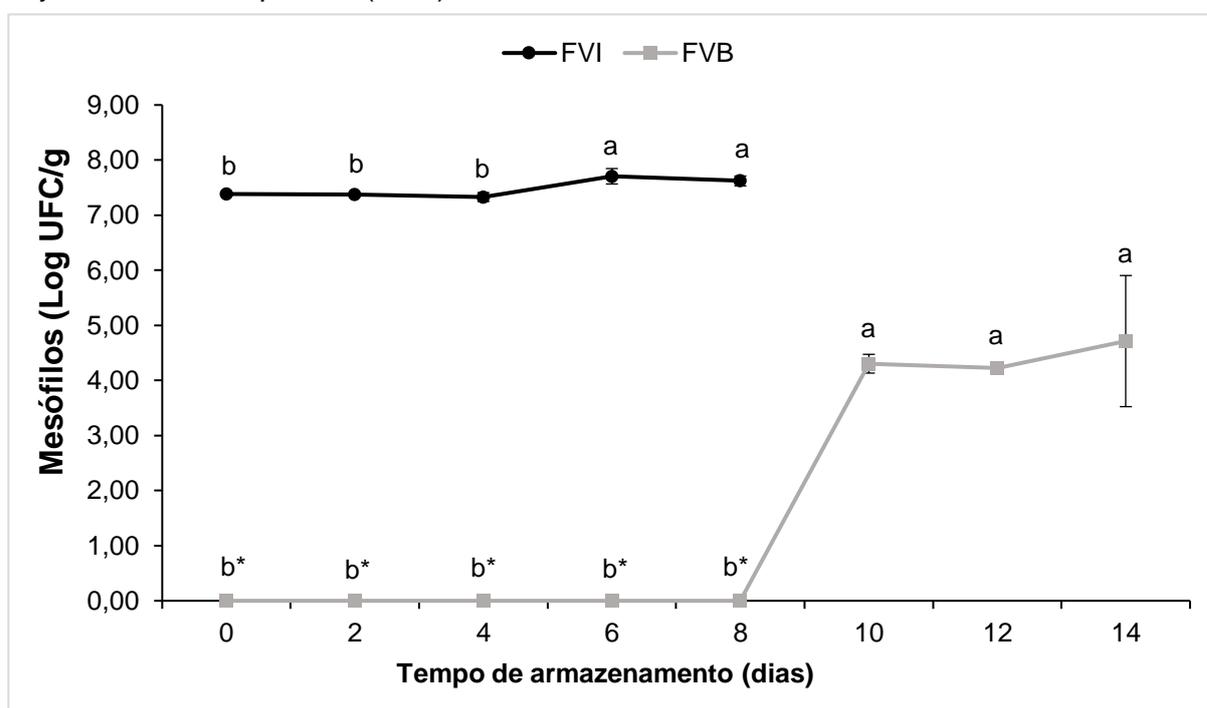
**Tabela 5.** Contagem de coliformes a 45 °C, durante o período de armazenamento sob refrigeração do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).

Amostras	Período de armazenamento (dias)							
	0	2	4	6	8	10	12	14
FVI	<3,0	>1.100	>1.100	>1.100	>1.100	-	-	-
FVB	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0

Médias de duas amostras. Cada amostra foi analisada em triplicata.

A contagem de bactérias mesófilas (Log UFC/g), estão apresentadas na Figura 22 e Apêndice I. Os dados evidenciaram que desde o período inicial (dia 0) a amostra controle apresentou uma carga microbiana elevada de aeróbios mesófilos com 7,38 Log UFC/g, e a multiplicação aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) a partir do dia 6 até o final do período de armazenamento. O FVB diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) do controle (FVI), pois o branqueamento reduziu logarithmicamente a 0 a carga microbiana. No dia 10 de armazenamento sob refrigeração, a amostra FVB apresentou contagem significativa ( $p < 0,05$ ) de 4,30 Log UFC/g, e não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) até o dia 14 de armazenamento refrigerado.

**Figura 22.** Efeito do armazenamento sob refrigeração [4,90 °C (0,32)] na contagem de bactérias mesófilas (Log UFC/g) das amostras de feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).



Médias de duas amostras e barra de desvio padrão. Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

\* Médias seguidas de asterisco, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) do controle (FVI) segundo o teste t.

A atividade respiratória, o estresse oxidativo, e a produção de etileno pode provocar diversas reações metabólicas e que estão diretamente relacionadas aos fatores determinantes para o processo de senescência das células vegetais<sup>95</sup>, e a

disponibilidade de oxigênio, a atividade de água, o pH, e o potencial redox do alimento podem contribuir para deterioração e elevação da multiplicação dos microrganismos<sup>51</sup>.

Weil et al.<sup>96</sup>, estudando o efeito do branqueamento na segurança microbiana de pimenta selvagem, observaram que o tratamento térmico a 75 °C por 3 minutos, diminuiu significativamente a contagem microbiana de aeróbios mesófilos, coliformes, *Staphylococcus spp*, bolores e leveduras.

A Figura 23 e Apêndice I apresentam a contagem das bactérias psicrotróficas. A amostra FVI, não apresentou contagem desse microrganismo no dia 0. No entanto, a partir do segundo dia de armazenamento foi evidenciado uma multiplicação logarítmica significativa ( $p < 0,05$ ) com 5,53 Log UFC/g, no dia 4 ocorreu uma contagem significativa ( $p < 0,05$ ) de 6,09 Log UFC/g, não apresentando diferença significativa ( $p > 0,05$ ) até oitavo dia de armazenamento refrigerado.

O tratamento de branqueamento, diminuiu a carga microbiológica da amostra (FVB), e manteve a estabilidade até o dia 8, não apresentando diferença significativa ( $p > 0,05$ ). No dia 10 de armazenamento sob refrigeração, foi observada uma multiplicação significativa ( $p < 0,05$ ) de 3,26 Log UFC/g, mantendo-se com alta contagem até o último dia de armazenamento (dia 14 - 4,55 Log UFC/g).

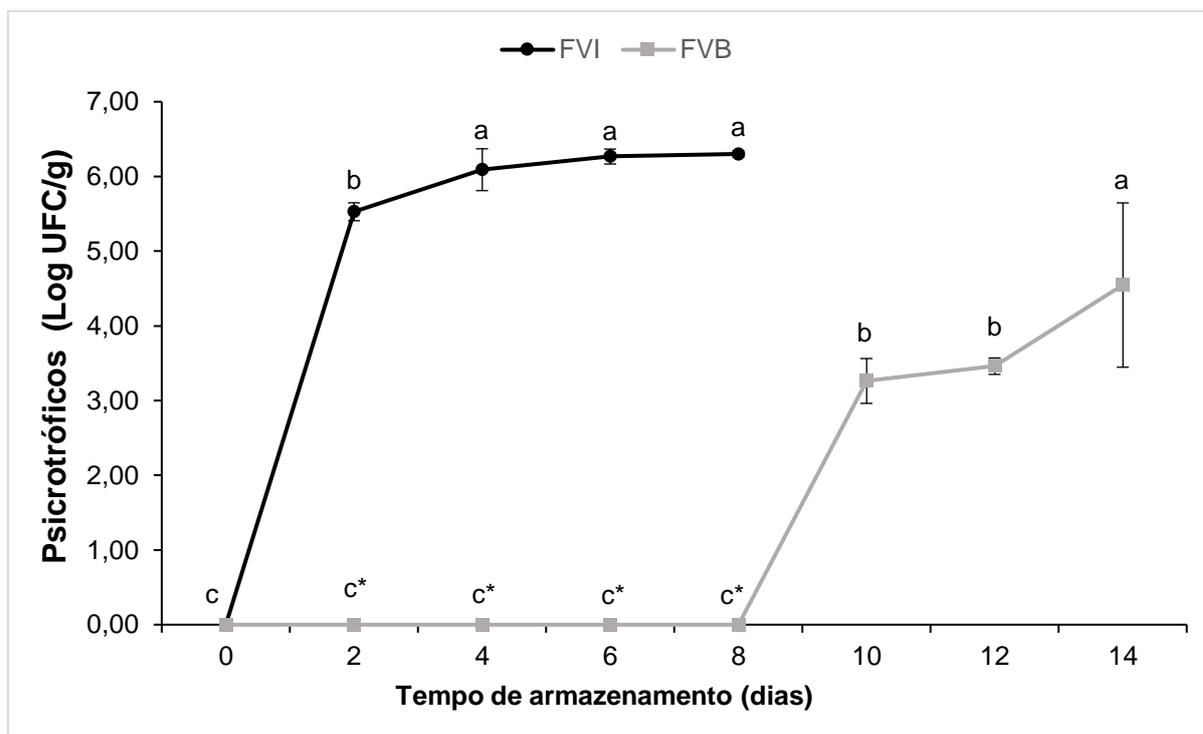
A população microbiana de psicrotróficos crescem em alimentos sob refrigeração (0 - 7 °C) e, espécies dos gêneros de *Clostridium*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* são responsáveis pela causa da deterioração e amolecimento em vegetais refrigerados<sup>97</sup>.

A contagem de coliformes a 45 °C, aeróbios mesófilos e psicrotróficos não diferencia a tipologia bacteriana e não é considerado um indicador de segurança. No entanto, é um fator preditivo e essencial para avaliação da vida útil dos alimentos, pois pode-se obter através desses parâmetros informações sobre a qualidade dos produtos, condições de processamento, manipulação, deficiência na sanitização ou até mesmo falha no controle do processo de armazenamento.

É possível evidenciar que a redução na carga microbiológica após a aplicação do branqueamento retardou a multiplicação microbiana, mostrando-se eficaz na prevenção da deterioração do feijão-verde até o oitavo dia de armazenamento sob refrigeração. Apesar da leguminosa necessitar de tratamento térmico efetivo previamente ao consumo, a utilização de alimentos com padrões microbiológicos adequados, é fundamental para a garantia da segurança dos alimentos, como também, para a manutenção da vida útil da matéria-prima.

Para a maioria dos alimentos, a contaminação por microrganismo, são as causas mais rápidas e importantes de deterioração, pois podem alterar a qualidade por diversos mecanismos, como pela produção de enzimas hidrolíticas que modificam as componentes estruturais e que causam amolecimento ou liquefação nos alimentos, produção de polissacarídeos extracelulares que causam viscosidade, como também, a formação e liberação de compostos não voláteis que alteram o sabor<sup>51</sup>.

**Figura 23.** Efeito do armazenamento sob refrigeração [4,90 °C (0,32)] na contagem de bactérias psicrotróficas (Log UFC/g) das amostras de feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).



Médias de duas amostras e barra de desvio padrão. Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

\* Médias seguidas de asterisco, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) do controle (FVI) segundo o teste t.

Neves, Silva e Vieira<sup>98</sup>, estudando os efeitos combinados de pré-tratamentos na redução da carga microbiana de abobrinha, comprovaram que o branqueamento em conjunto com o processo de radiação e termossonificação, resultaram em diminuição logarítmica significativa dos dois microrganismos estudados (*Enterococcus faecalis* e *Deinococcus radiodurans*).

Breidt, Hayes e Fleming<sup>99</sup>, corroboraram que o processo de branqueamento de pepinos por 15 segundos a 80 °C diminuiu a contaminação

microbiana de 2 a 3 ciclos logarítmicos a partir de uma população inicial com 106 UFC/g.

Os dados obtidos na presente pesquisa, permitem inferir que o tratamento de branqueamento reduziu significativamente a contaminação microbiológica do feijão-verde, auxiliando dessa forma na operação de conservação sob refrigeração e consequentemente no prolongamento da vida útil.

### **5.2.3 Alteração na atividade da peroxidase durante o período de armazenamento refrigerado do feijão-verde**

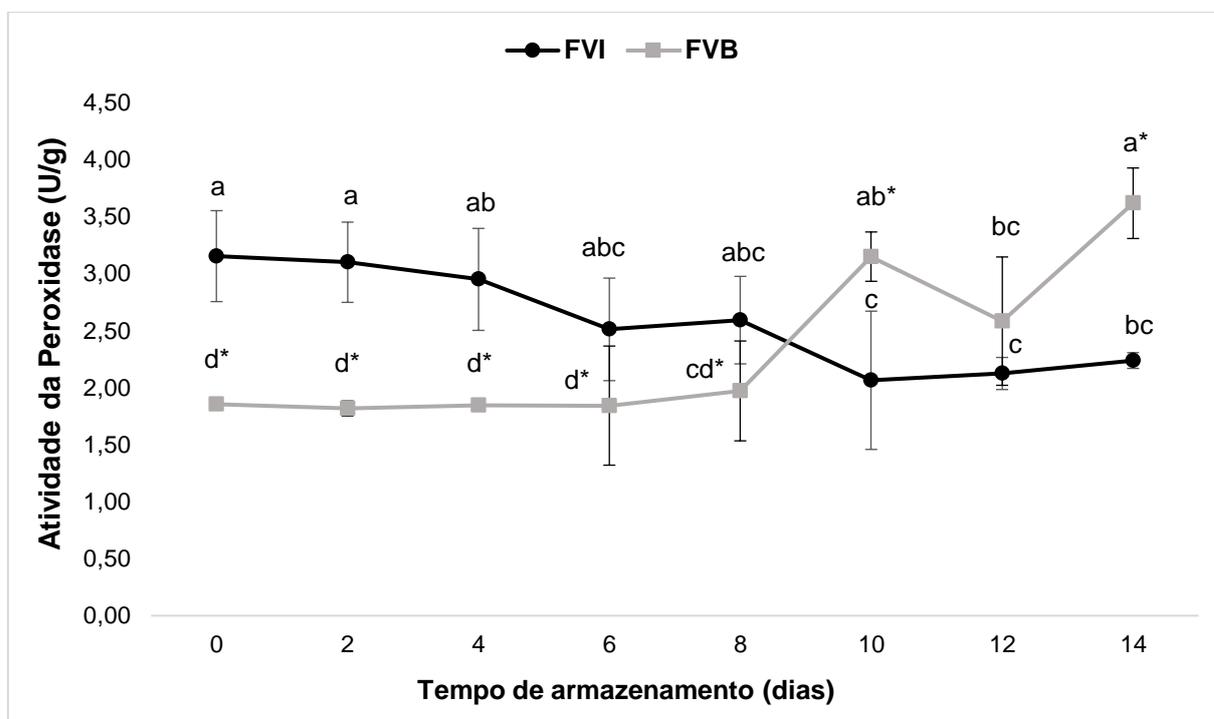
A Figura 24 e Apêndice J, apresenta o comportamento da atividade da peroxidase (U/g) durante o período de armazenamento (0-14 dias) sob refrigeração a 4,90 °C (0,32). A atividade da peroxidase na amostra FVI, apresentou uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) a partir do dia 10 de armazenamento sob refrigeração, quando comparado o período inicial.

Pesquisas com diferentes fontes vegetais também evidenciaram a diminuição da atividade da POD durante o processo de amadurecimento. Gökmen et al.<sup>100</sup> pesquisando os efeitos de diferentes condições de branqueamento na atividade da peroxidase de ervilhas durante o armazenamento congelado de a -18 °C por até 12 meses, notaram que a atividade da enzima POD nas ervilhas que não passaram por processo de branqueamento (amostra controle) diminuiu consideravelmente durante todo o período de armazenamento. Bahçeci et al.<sup>72</sup>, avaliando as mudanças na atividade da POD em vagens de feijão-verde branqueados e não branqueados durante o armazenamento congelado a -18 °C por 9 meses, observaram que as atividades da POD foram relativamente estáveis durante 6 meses de armazenamento congelado, mas tenderam a diminuir depois, especialmente para amostras não branqueadas.

Oliveira Junior et al.<sup>101</sup>, estudando alterações pós-colheita da “fruta-de-lobo” (*Solanum lycocarpum* St. Hil.), observaram que os valores da atividade de peroxidase diminuíram gradativamente durante o amadurecimento da fruta, no período de 0 a 20 dias. Os autores correlacionam o efeito com a diminuição dos teores de polifenóis durante o processo de senescência, pois a degradação dos compostos fenólicos pode se ligar com outros componentes celulares e tornar indisponível à ação da enzima POD. Dados semelhantes foram encontrados nos diferentes estádios de

desenvolvimento dos frutos de figueira (*Ficus carica* L.), onde os pesquisadores observaram a maior atividade nos frutos verdes, e que foi sofrendo redução gradual durante o estágio de desenvolvimento dos frutos<sup>102</sup>.

**Figura 24.** Atividade da peroxidase (U/g) em feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB) a 70 °C por 4 min, durante o período de armazenamento em refrigeração a 4,90 °C (0,32).



Médias de duas amostras e barra de desvio padrão. Cada amostra foi analisada em triplicata.

abc. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

\* Médias seguidas de asterisco, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) do controle (FVI) segundo o teste t.

O branqueamento dos grãos de feijão-verde a 70 °C por 4 min, propiciou uma redução eficaz na atividade da POD e uma estabilidade até o oitavo dia, não apresentando diferença significativa ( $p > 0,05$ ) neste período de conservação. Esse resultado infere que o pré-tratamento aplicado resultou em uma maior estabilização da enzima durante o período de armazenamento. No entanto, a partir do décimo dia de armazenamento sob refrigeração, observou-se um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da atividade da peroxidase sem alteração significativa no último dia de armazenamento.

Considerando que, a inativação térmica das enzimas é reversível, principalmente da POD, que pode recuperar a atividade sob certas condições de

armazenamento<sup>72</sup>, é importante o conhecimento do tempo de ascendência dessa atividade para que se possa estabelecer os padrões de qualidade e a definição da vida útil da matéria-prima.

Rodrigo et al.<sup>103</sup>, pesquisando a cinética de inativação e regeneração da peroxidase de rábano, demonstraram que quanto mais curto o tempo de tratamento térmico, a regeneração da POD mais rápida ocorreu, e com relação a temperatura de armazenamento (4 e 25 °C) e tempo de regeneração, foi observado que quanto mais alta temperatura de armazenamento, mais rápida foi a regeneração. Os autores afirmaram que os efeitos da POD aquecida em meio aquoso, altera a estabilização das interações dentro da molécula e a configuração da enzima, acarretando uma inativação, mas as moléculas podem recuperar sua atividade quando a solução esfria, pois isoenzimas parcialmente inativadas podem recuperar a atividade dependendo do tempo e da temperatura de armazenamento.

Segundo a pesquisa realizada por Thongsook e Barrett<sup>104</sup>, a reativação da peroxidase foi observada em amostra de brócolis durante o armazenamento à temperatura ambiente após branqueamento a 75 °C por 1 e 5 min em cerca de 20 e 10%, respectivamente. Os autores afirmaram que a variabilidade na desnaturação das diferentes isoenzimas por calor, pode ser atribuída à estrutura particular da enzima, ou seja, as interações eletrostáticas e hidrofóbicas não covalentes determinam o dobramento e a estabilidade.

A regeneração da enzima peroxidase, também foi relatada no estudo com couve de Bruxelas, onde foi analisada amostra na zona apical (parte interna) e na camada externa após armazenamento a -20 °C por 4 meses, os dados demonstraram um aumento na atividade da POD para 83,5% e 17,8%, respectivamente nas regiões; Essa recomposição pode estar associada a presença de frações enzimáticas termolábeis e resistentes ao calor<sup>32</sup>.

A diferença nos resultados de reativação ou não da atividade enzimática, pode ser elucidada, pelo fato das condições de processamento, do tipo de fonte vegetal e as características das isoenzimas presente na matéria-prima, atributos que exercem um papel determinante no grau de inativação reversível<sup>104</sup>.

Esse fenômeno é sugerido como um procedimento complexo e que é influenciado por vários fatores. A enzima POD, submetida a tratamento térmico de diversas variedades vegetativas têm evidenciado a capacidade de recuperar sua atividade enquanto os vegetais são armazenados, e muitos estudos atribuem esse

fato a configuração das isoenzimas presentes na matéria-prima<sup>104</sup>. No entanto, um achado interessante na presente pesquisa, despertou a investigação de outras hipóteses que podem contribuir para o aumento dessa atividade enzimática.

É válido ponderar as observações microbiológicas e correlacionar com a atividade da POD. A partir do décimo dia de análise, o feijão-verde branqueado apresentou uma multiplicação significativa ( $p < 0,05$ ) das bactérias mesófilas e psicrótróficas, correspondendo também com a ascendência da POD.

A pesquisa desenvolvida com o objetivo de avaliar a resistência sistêmica induzida em arroz por *Pseudomonas fluorescens*, verificou uma redução no desenvolvimento de doenças na planta causada por *Rhizoctonia solani* e, foi observado concomitantemente, a elevação da atividade de peroxidase quando o patógeno foi inoculado. A função protetora de algumas peroxidases oxidativas tem sido relatada como sistema de defesa nas plantas<sup>105</sup>.

A elevação da POD também foi constatada com a indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus*, sendo a atividade influenciada por três fatores: pelo indutor biótico, tempo de exposição e pelo número de aplicações<sup>106</sup>. Singh et al.<sup>34</sup>, observaram alterações na atividade da peroxidase em três culturas distintas: feijão-caupi, tomate e algodão, após infestação por insetos. Os resultados demonstraram que a enzima de todas as plantas estudadas foi aumentada na faixa de 1,6 a 3,14 vezes, pois a POD catalisa a redução de peróxido e gera espécies reativas de oxigênio quando infestadas.

A atividade da peroxidase (POD) é fundamental para determinar o tempo de branqueamento, bem como, para a observação dos processos subsequentes como a conservação por refrigeração<sup>73</sup>.

Nesse contexto, a elevação da atividade enzimática observada após o décimo dia de refrigeração para a amostra FVB, pode ter sido induzida pela renaturação, configuração e termoestabilidade das isoenzimas; pelo aumento da contagem microbiana, ou até mesmo pela associação dos fatores.

#### **5.2.4 Monitoramento fotográfico**

A Figura 25 apresenta as mudanças ocorridas durante o processo de senescências dos grãos de feijão-verde in natura (FVI) e branqueados (FVB), durante o armazenamento sob refrigeração a 4,90 °C (0,32).

Nas imagens evidenciam que a amostra controle (FVI) iniciou os processos de degradação a partir do dia 4 de armazenamento, com comprometimento na estrutura dos grãos, como: desprendimento do tegumento e pequena oxidação no halo, provocando um escurecimento. Os efeitos foram sendo agravados ao longo do período de armazenamento refrigerado. A partir do oitavo dia foi possível observar, também, o surgimento de feridas, formação de espuma, e mudanças na cor, com grãos mais amarelados em razão da diminuição do pigmento clorofila. Os últimos dias (12 e 14), demonstram podridão dos grãos com processos de oxidação e escurecimento mais severos, enrugamento, amolecimento e líquido viscoso.

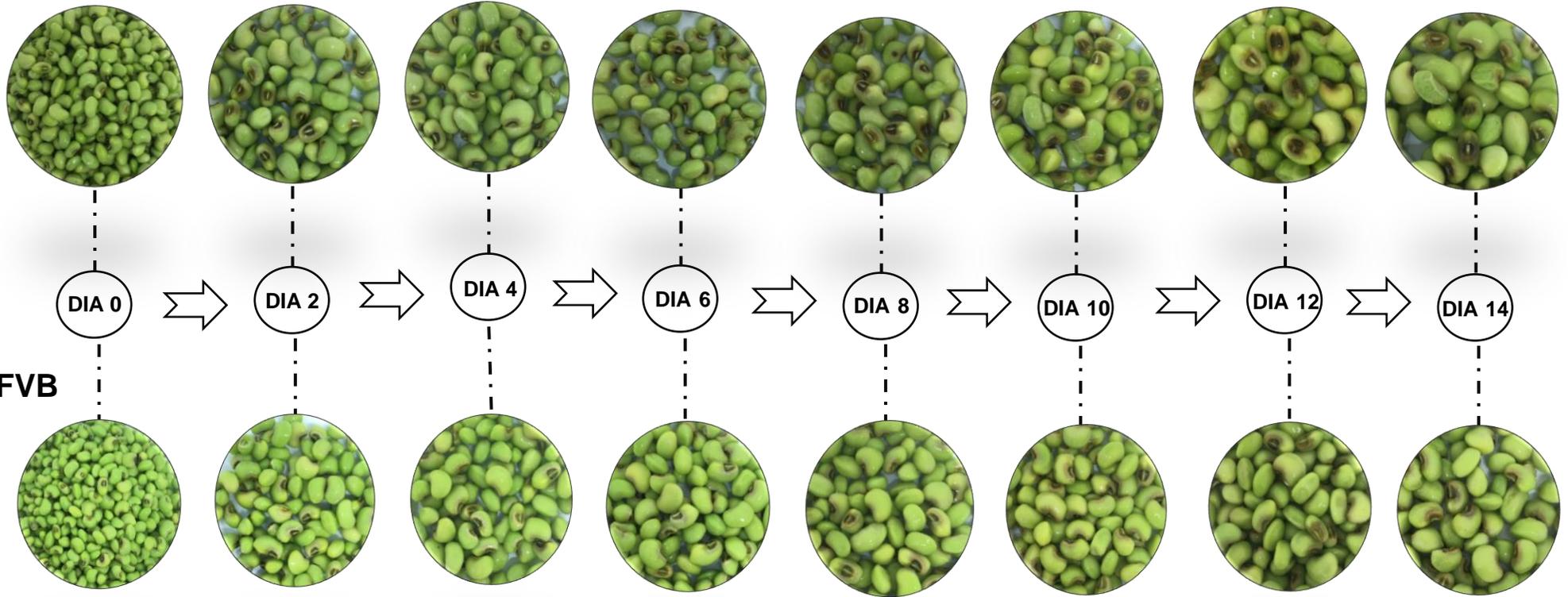
Esses efeitos de deterioração podem estar relacionados a diversos fatores, pois após a colheita, os atributos de qualidade nos vegetais não tratados como, cor, firmeza e sabor podem ser acometidos pela ação de enzimas intracelulares, como peroxidase e polifenoloxidase, pela ação dos microrganismos e pelas alterações físico-químicas<sup>10</sup>.

A amostra branqueada (FVB) exibe uma maior uniformidade da cor durante todo o período de armazenamento e, diminuição da qualidade mais branda e lenta. As características de deterioração foram observadas nos três últimos dias de armazenamento, exibindo escurecimento do halo, enrugamento leve e exsudação de líquido. Desta forma, podemos considerar que o branqueamento propiciou fatores favoráveis para o prolongamento da qualidade no período de senescência dos grãos de feijão-verde.

O tratamento térmico brando tem sido associado a diversos benefícios nos alimentos vegetais, por proporcionar a inativação de enzimas, a expulsão do ar retido nas regiões intracelulares, diminuindo os processos oxidativos, e reduzindo ou inativando a carga microbiana<sup>107</sup>. Wang et al.<sup>108</sup>, estudando diferentes estratégias de branqueamento nas características de qualidade e constituintes bioativos de *Toona sinensis*, corroboraram que o branqueamento por imersão em água quente, exibiu uma melhor retenção da cor verde.

**Figura 25.** Monitoramento fotográfico do estágio de senescência do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB), armazenado sob refrigeração.

**FVI**



**FVB**

Fonte: Arquivo pessoal.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos da primeira etapa da pesquisa, permitiram inferir que o tratamento de branqueamento do feijão-verde (cultivar Chico Joaquim), propiciou a diminuição na atividade enzimática da peroxidase, sendo a redução acentuada com o aumento do binômio temperatura e tempo. No entanto, temperatura e tempo elevados de processamento acarretaram o comprometimento da firmeza, maior ganho de massa, causando amolecimento dos grãos de feijão-verde, e escurecimento da cor.

Portanto, a utilização de temperatura e tempo brandos foram favoráveis para a manutenção e/ou melhoramento das características físicas da matéria-prima. O binômio 70 °C por 4 minutos, apresentou efeitos satisfatórios na atividade enzimática e propriedades de textura próximo à amostra in natura. O parâmetro de cor foi consideravelmente melhor quando comparado ao controle. O branqueamento proporcionou um realce na cor verde, tornando os grãos com matiz mais esverdeada e brilhante.

Na segunda etapa da pesquisa, os resultados permitiram concluir que o efeito do tratamento térmico foi benéfico para o prolongamento da vida de prateleira do feijão-verde, pois propiciou menores alterações decorrentes do processo de senescência dos grãos. Em razão das alterações nos valores da análise físico-química (pH e acidez titulável), alta carga microbiana e alta atividade enzimática, a amostra controle (FVI), apresentou degradação na qualidade a partir do dia 4 de armazenamento, tendo uma vida útil entre 2-3 dias de armazenamento sob refrigeração a 4,90 °C (0,32). A amostra branqueada (FVB) assegurou a qualidade dos parâmetros estudados até o oitavo dia de armazenamento sob refrigeração a 4,90 °C (0,32), prolongando dessa forma a vida de prateleira das amostras, sendo 5 dias a mais do que o feijão-verde in natura.

Nesse sentido, em decorrência dos atributos de qualidade que o branqueamento proporciona, a aplicação do método se enquadra como alternativa para o beneficiamento do feijão-verde da cultivar Chico Joaquim, com o intuito da ascensão econômica da atividade produtiva e para a garantia dos atributos de qualidade e de segurança.

## 7 TRAJETÓRIA ACADÊMICA

O ingresso no Mestrado Acadêmico pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGNUT/UFRN) ocorreu em abril de 2019, na linha de pesquisa: Qualidade de Alimentos. A vivência acadêmica do mestrado proporcionou aprofundar os conhecimentos em várias áreas da nutrição, mas especialmente na área de qualidade de alimentos.

Em conjunto com as atividades obrigatórias e optativas curriculares, a discente teve oportunidade de desenvolver outras vivências, como: colaboração em projetos de extensão (Oficina para elaboração de fichas técnicas e aplicação de testes de aceitabilidade no âmbito do programa nacional de alimentação escolar; Workshop sobre hábitos alimentares saudáveis e importância da educação alimentar e nutricional no âmbito do programa nacional de alimentação escolar) e como participante das ações de extensão (Docência no ensino superior e Tecnologias educacionais no contexto do ensino remoto). Contribuição nos projetos de pesquisa (Determinação da cinética de branqueamento para o beneficiamento do feijão-verde [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]; Desenvolvimento de filmes comestíveis para conservação pós-colheita de frutos; Avaliação do potencial de utilização do pó da concha da ostra *Crassostrea gasar*: análise de minerais e aplicação em produto de panificação; e Influência da sazonalidade e período de armazenamento sobre a composição centesimal e carga microbiológica de ostras orgânicas da espécie *Crassostrea gasar*).

Além dessas atividades, a discente realizou a docência assistida na Disciplina de Microbiologia de Alimentos para os alunos de graduação no curso de Nutrição/UFRN. Participou de duas bancas de avaliação de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) da graduação em Nutrição/UFRN, coorienta três TCCs e três alunos de iniciação científica, e contribuiu com algumas produções científicas:

- Aplicação do branqueamento: influência na cor e composição centesimal do feijão-verde (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) - Simpósio Latino Americano de Ciência dos Alimentos (SLACA 2019).
- Chitosan and clayminerals coating's effect on melon minimally processed's Quality - - Simpósio Latino Americano de Ciência dos Alimentos (SLACA 2019).

- Avaliação da utilização de biofilmes comestíveis na conservação de frutos – XXX Congresso de Iniciação Científica e Tecnológica (eCICT) 2019
- Elaboração e caracterização nutricional e microbiológica de bolo com farinha da torta da semente de faveleira - XXX Congresso de Iniciação Científica e Tecnológica (eCICT) 2019.
- Efeito do filme comestível de quitosana na conservação do melão minimamente processado - XXXI Congresso de Iniciação Científica e Tecnológica (eCICT) 2020.
- Composição centesimal do pó da concha da ostra *Crassostrea gasar*- XXXI Congresso de Iniciação Científica e Tecnológica (eCICT) 2020.
- Ostra congelada: produto seguro? - XXXI Congresso de Iniciação Científica e Tecnológica (eCICT) 2020.

O produto da dissertação foi elaborado e submetido para publicação no periódico *LWT - Food Science and Technology*, fator de impacto: 4.006, CiteScore: 6,4.

Diante da trajetória acadêmica relatada, é válido ponderar todo conhecimento adquirido nesse período e que agregará a minha prática profissional como técnica do Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Nutrição/ UFRN.

## REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization. FAO: Se o atual ritmo de consumo continuar, em 2050 mundo precisará de 60% mais alimentos e 40% mais água [Internet]. 2016. p. 1–3. Available from: <https://nacoesunidas.org/fao-se-o-atual-ritmo-de-consumo-continuar-em-2050-mundo-precisara-de-60-mais-alimentos-e-40-mais-agua/>
2. Food and Agriculture Organization. Pulses for food security and nutrition: How can their full potential be tapped? IN [Internet]. 2016. p. 1–2. Available from: <http://www.fao.org/3/a-i6690e.pdf>
3. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 12, de 28 de março de 2008 - Estabelece o Regulamento Técnico do Feijão, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem. Seção 1 Brasília-DF; 2008 p. 16.
4. Freire Filho RF, Ribeiro VQR, Rocha M de M, Silva KJD, Nogueira, M do S da R, Rodrigues E V. Feijão-caupi no Brasil : produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina: Embrapa Meio-Norte; 2011.
5. Fatokun C, Tarawali S, Singh B, Kormawa P, Tamò M. Challenges and Opportunities for Enhancing Sustainable Cowpea Production [Internet]. International Institute of Tropical Agriculture. Ibadan, Nigeria; 2002. 433 p. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/267720136>
6. Embrapa Meio-Norte. A cultura do feijão-caupi no Brasil [Internet]. Vol. 1, Embrapa. Teresina-PI; 2016. Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1065493/a-cultura-do-feijao-caupi-no-brasil>
7. Salgado SM, Guerra NB, Andrade SAC. Caracterização físico-química do grânulo do amido do feijão caupi. Ciênc Tecnol Aliment. 2005;25(3):525–30.
8. Queiroga PVDDM. Estudo da reidratação do feijão verde (*Vigna unguiculata* L . Walp) desidratado por micro-ondas com e sem pré-tratamento osmótico [Tese (Doutorado)]. [Natal-RN]: Universidade Federal do Rio Grande do Norte.; 2012.
9. Food and Agriculture Organization. Reduzir o desperdício de alimentos na América Latina e Caribe será chave para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável [Internet]. 2016 [cited 2020 Jul 19]. p. 1. Available from: <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/407691/>

10. Xiao HW, Pan Z, Deng LZ, El-Mashad HM, Yang XH, Mujumdar AS, et al. Recent developments and trends in thermal blanching – A comprehensive review. *Inf Process Agric* [Internet]. 2017;4(2):101–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.inpa.2017.02.001>
11. Yao Y, Wei X, Pang H, Wang K, Liu Q, Fu H, et al. Effects of radio-frequency energy on peroxidase inactivation and physiochemical properties of stem lettuce and the underlying cell-morphology mechanism. *Food Chem* [Internet]. 2020;322:1–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126753>
12. Feng Y, Wu B, Yu X, Yagoub AEGA, Sarpong F, Zhou C. Effect of catalytic infrared dry-blanching on the processing and quality characteristics of garlic slices. *Food Chem*. 2018;266:309–16.
13. Jaiswal AK, Gupta S, Abu-Ghannam N. Kinetic evaluation of colour, texture, polyphenols and antioxidant capacity of Irish York cabbage after blanching treatment. *Food Chem*. 2012;131(1):63–72.
14. Hadidi M, Ibarz A, Conde J, Pagan J. Optimisation of steam blanching on enzymatic activity, color and protein degradation of alfalfa (*Medicago sativa*) to improve some quality characteristics of its edible protein. *Food Chem* [Internet]. 2019;276(June 2018):591–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.049>
15. Codex Alimentarius. Draft and proposed revision of the classification of foods and feed at steps 7 and 4: vegetable commodity groups. 2017;6:1–53.
16. Boukar O, Belko N, Chamarthi S, Togola A, Batiemo J, Owusu E, et al. Cowpea (*Vigna unguiculata*): Genetics, genomics and breeding. *Plant Breed*. 2018;1–10.
17. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - LSPA [Internet]. Área e Produção de Cereais, Leguminosas e Oleaginosas. Segundo os Produtos Agrícolas - Brasil. 2020. Available from: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?=&t=resultados>
18. Companhia Nacional de Abastecimento (Conab). Acompanhamento da safra brasileira 2019/2020 [Internet]. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2019/2020. Brasília; 2020. Available from: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletim-da-safra-de-gaos>
19. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Soluções tecnológicas e

- inovação 2018. Embrapa, editor. Brasília, DF ; 2018. 101 p.
20. Sousa JLM. Seleção de genótipos de feijão-caupi em condições de sequeiro e irrigado para o mercado de vagens e grãos verdes. [Dissertação (Mestrado)]. [Teresina-PI]: Universidade Federal do Piauí; 2013.
  21. Costa AF, Vale LS, Oliveira AB, Neto JF de B, Ribeiro WS, Cardoso GD. Evaluation of yield performance in cowpea genotypes (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Aust J Crop Sci. 2017;11(3):308–12.
  22. Lazaridi E, Ntatsi G, Savvas D, Bebeli PJ. Diversity in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) local populations from Greece. Genet Resour Crop Evol. 2017;64(7):1529–51.
  23. Furtunato AA, Magalhães MM dos A, Maria ZL. Estudo do feijão verde (*Vigna unguiculata* (L) Walp) minimamente processado. Ciência e Tecnol Aliment. 2000;20(3):299–301.
  24. Medeiros UKL de. Estudo da secagem do feijão verde (*Vigna unguiculata* L. Walp)– análise experimental do processo combinado leito fixo/leito de jorro [Dissertação (Mestrado)]. [Natal-RN]: Universidade Federal do Rio Grande do Norte.; 2004.
  25. Machado N, Oppolze D, Ana R, Ferreira L, AS Rosa E, Rodrigues M, et al. Evaluating the freezing impact on the proximate composition of immature cowpea (*Vigna unguiculata* L.) pods: classical versus spectroscopic approaches. J Sci Food Agric. 2017;97:4295–4305.
  26. Ntatsi G, Gutiérrez-Cortines ME, Karapanos I, Barros A, Weiss J, Balliu A, et al. The quality of leguminous vegetables as influenced by preharvest factors. Sci Hortic (Amsterdam). 2018;232:191–205.
  27. Bhattacharya S, Malleshi NG. Physical, chemical and nutritional characteristics of premature-processed and matured green legumes. J Food Sci Technol. 2012;49(4):459–66.
  28. Karapanos I, Papandreou A, Skouloudi M, Makrogianni D, Fernández JA, Rosa E, et al. Cowpea fresh pods – a new legume for the market: assessment of their quality and dietary characteristics of 37 cowpea accessions grown in southern Europe. J Sci Food Agric. 2017;97(13):4343–52.
  29. Costa GEA, Queiroz-Monici KS, Reis SMPM, Oliveira A. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. Food Chem. 2006;94(3):327–30.

30. Mayer AM. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry*. 2006;67(21):2318–31.
31. Yoruk R, Marshall MR. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A review. *J Food Biochem*. 2003;27(5):361–422.
32. Pérez-Calderón J, Califano A, Santos MV, Zaritzky N. Kinetic Parameters for the Thermal Inactivation of Peroxidase and Lipoxygenase in Precooked Frozen Brassica Species. *J Food Sci*. 2017;82(6).
33. Kalsoom U, Bhatti HN, Asgher M. Characterization of Plant Peroxidases and Their Potential for Degradation of Dyes: a Review. *Appl Biochem Biotechnol*. 2015;176(6):1529–50.
34. Singh H, Dixit S, Verma PC, Kumar P, Singh H, Dixit S, et al. Differential peroxidase activities in three different crops upon insect feeding. *Plant Signal Behav*. 2013;8(10).
35. Pereira WDL, De Albuquerque J, Filho P, Albuquerque M, Mansur MB, Nogueira RJ, et al. Mudanças bioquímicas em genótipos de amendoim submetidos a déficit hídrico moderado. Biochemical changes in peanut genotypes submitted to moderate water stress. *Rev Ciência Agronômica* [Internet]. 2012;43(4):766–73. Available from: [www.ccarevista.ufc.br](http://www.ccarevista.ufc.br)
36. Chitarra MIF, Chitarra AB. Pós Colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e Manuseio. UFLA, editor. Lavras; 2005. 783 p.
37. Freitas AA, Francelin MF, Hirata GF, Clemente E, Schmidt FL. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. *Cienc e Tecnol Aliment*. 2008;28(1):172–7.
38. Tomás-Barberán FA, Espín JC. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J Sci Food Agric*. 2001;81(9):853–76.
39. Nielsen SS. Food Analysis Laboratory Manual [Internet]. 3°. Pardue University, editor. Idiana, USA: Springer International Publishing; 2017. 244 p. (Food Science Text Series). Available from: <http://cst.ur.ac.rw/library/Food Science books/batch1/Food Analysis Laboratory Manual Second Edition.pdf>
40. Fernandes DM. Impacto de processos físicos na componente bioactiva e na estabilidade de polpas de pêra. [Dissertação]. Lisboa: Universidade Técnica de

- Lisboa; 2009.
41. Cruz RMS, Vieira MC, Silva CLM. Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*). J Food Eng. 2006;72(1):8–15.
  42. Toivonen PMA, Brummell DA. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. Postharvest Biol Technol. 2008;48(1):1–14.
  43. Tribst AAL, Leite Júnior BRDC, De Oliveira MM, Cristianini M. High pressure processing of cocoyam, Peruvian carrot and sweet potato: Effect on oxidative enzymes and impact in the tuber color. Innov Food Sci Emerg Technol. 2016;34:302–9.
  44. Zhang Z, Wang J, Zhang X, Shi Q, Xin L, Fu H, et al. Effects of radio frequency assisted blanching on polyphenol oxidase, weight loss, texture, color and microstructure of potato. Food Chem. 2018;248:173–82.
  45. Jesus ALT de, Leite TS, Cristianini M. High isostatic pressure and thermal processing of açai fruit (*Euterpe oleracea Martius*): Effect on pulp color and inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase. Food Res Int. 2018;105(September 2017):853–62.
  46. Bhat S, Saini CS, Kumar M, Sharma H k. Peroxidase as indicator enzyme of blanching in bottle gourd (*Lagenaria siceraria*): Changes in enzyme activity, color, and morphological properties during blanching. J Food Process Preserv. 2019;43(8):1–11.
  47. Valim APW. Técnico em Agroindústria, tecnologia de frutas e hortaliças. Rio-Grandense IFS, editor. Pelotas-RS; 2011. 206p.
  48. Neves FIG, Vieira MC, Silva CLM. Inactivation kinetics of peroxidase in zucchini (*Cucurbita pepo* L.) by heat and UV-C radiation. Innov Food Sci Emerg Technol. 2012;13:158–62.
  49. Wang J, Fang XM, Mujumdar AS, Qian JY, Zhang Q, Yang XH, et al. Effect of high-humidity hot air impingement blanching (HHAIB) on drying and quality of red pepper (*Capsicum annuum* L.). Food Chem. 2017;220:145–52.
  50. Arroqui C, López A, Esnoz A, Vírveda P. Mathematic model of an integrated blancher/cooler. J Food Eng. 2003;59(2–3):297–307.
  51. Fellows PJ. Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática. 4th ed. Artmed, editor. Porto Alegre; 2019. 922 p.

52. Yang XH, Zhang Q, Wang J, Deng LZ, Kan Z. Innovative superheated steam impingement blanching (SSIB) enhances drying rate and quality attributes of line pepper. *Inf Process Agric* [Internet]. 2017;4(4):283–90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.07.004>
53. Yonny ME, Medina A V., Nazareno MA, Chaillou LL. Enhancement in the oxidative stability of green peas by *Ilex paraguariensis* addition in a blanching process before their refrigerated and frozen storage. *LWT - Food Sci Technol*. 2018;91:315–21.
54. Gonçalves EM, Pinheiro J, Abreu M, Brandão TRS, Silva CLM. Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching. *J Food Eng* [Internet]. 2010;97(4):574–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.005>
55. Gonçalves EM, Pinheiro J, Abreu M, Brandão TRS, Silva CLM. Modelling the kinetics of peroxidase inactivation, colour and texture changes of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) during blanching. *J Food Eng*. 2007;81(4):693–701.
56. Pandey OP, Mishra BK, Misra A. Comparative study of green peas using with blanching & without blanching techniques. *Inf Process Agric* [Internet]. 2019;6(2):285–96. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2018.10.002>
57. Bernstein A, Noreña CPZ. Kinetics of enzymatic inactivation and loss of anthocyanins and antioxidant activity in red cabbage blanched under different conditions. *J Food Biochem*. 2017;41(3).
58. Pereira M de A. Avaliação econômica de sistemas de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta: as experiências da Embrapa. 1º ed. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande, MS; 2019.
59. Tôsto SG, Belarmino LC, Castro GSA, Mangabeira JA de C, Silva OF da. Caracterização e avaliação econômica de sistemas de produção e cultivo de grãos em biomas brasileiros. Embrapa, editor. Brasília, DF; 2018. 248 p.
60. Bonnely S, Davis AL, Lewis JR, Astill C. A model oxidation system to study oxidised phenolic compounds present in black tea. *Food Chem*. 2003;83(4):485–92.
61. Campos ÂD, Silveira EM da L. Comunicado Técnico: Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. Embrapa Clima Temperado. 2003;1:2–4.
62. Resende O, Corrêa PC, Ribeiro DM, Neto AF. Comportamento mecânico dos

- grãos de feijão submetidos a compressão. Rev Bras Eng Agrícola e Ambient. 2007;11(4):404–9.
63. International Organization for Standardization. NBR/ISO 16779:2019. Análise sensorial – Avaliação (determinação e verificação) da vida útil dos alimentos. Rio de Janeiro; 2019. 9p p.
  64. Instituto Adolfo Lutz. 1ª Edição Digital. Métodos físicos-químicos para análise Aliment. 4th ed. 2008;1:1020p.
  65. Ryser ET, Schuman JD. Mesophilic Aerobic Plate Count. In: Salfinger Y, Tortorello M L. (eds.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5 ed. American Public Health Association. Washington, DC; 2015. 95–101 p.
  66. International Organization for Standardization. ISO 6579:2002 - Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 4th ed. 2002.
  67. Kornacki JL, Gurtler JB, Stawick BA. *Enterobacteriaceae*, *coliforms*, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: Salfinger, Y & Tortorello, M.L. (eds.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5 ed. American Public Health Association. Washington, DC; 2015. 103–120 p.
  68. Bennet RW, Hait JM, Tallent SM. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal enterotoxins*. In Salfinger, Y & Tortorello, M.L. (eds.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5 ed. American Public Health Association. Washington, DC; 2015. 509–526 p.
  69. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019 - dispõe sobre os padrões microbiológicos para os alimentos e sua aplicação. Diário Oficial da União. Seção 1, Brasília-DF; 2019 p. 96.
  70. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa Nº 60, de 23 de dezembro de 2019 - Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Seção 1, Brasília- DF; 2019 p. 133.
  71. Ruiz-ojeda LM, Peñas FJ. Comparison study of conventional hot-water and microwave blanching on quality of green beans. Innov Food Sci Emerg Technol [Internet]. 2013;20:191–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2013.09.009>

72. Bahçeci KS, Serpen A, Gokmen V, Acar J. Study of lipoxygenase and peroxidase as indicator enzymes in green beans: change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. *J Food Eng* 66. 2005;66:187–92.
73. Imaizumi T, Tanaka F, Uchino T. Effects of mild heating treatment on texture degradation and peroxidase inactivation of carrot under pasteurization conditions. *J Food Eng* [Internet]. 2019;257:19–25. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.03.024>
74. Stolle-Smits T, Beekhuizen JG, Recourt K, Voragen AGJ, Van Dijk C. Preheating effects on the textural strength of canned green beans. 1. Cell wall chemistry. *J Agric Food Chem*. 2000;48(11):5269–77.
75. Sila DN, Smout C, Elliot F, Van Loey A, Hendrickx M. Non-enzymatic depolymerization of carrot pectin: Toward a better understanding of carrot texture during thermal processing. *J Food Sci*. 2006;71(1).
76. Lau MH, Tang J, Swanson BG. Kinetics of textural and color changes in green asparagus during thermal treatments. *J Food Eng*. 2000;45:231–6.
77. Abu-Ghannam N, McKenna B. Hydration kinetics of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Food Sci*. 1997;62(3):520–3.
78. Wang J, Xiao HW, Ye JH, Wang J, Raghavan V. Ultrasound Pretreatment to Enhance Drying Kinetics of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) Slices: Pros and Cons. *Food Bioprocess Technol*. 2019;12(5):865–76.
79. Li X, Liu X, Hua Y, Chen Y, Kong X, Zhang C. Effects of water absorption of soybean seed on the quality of soymilk and the release of flavor compounds. *R Soc Chem*. 2019;9(6):2906–18.
80. Joshi M, Adhikari B, Panozzo J, Aldred P. Water uptake and its impact on the texture of lentils (*Lens culinaris*). *J Food Eng* [Internet]. 2010;100(1):61–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.028>
81. Kader ZMA. Study of some factors affecting water absorption by faba beans during soaking. *Food Chem*. 1995;53:235–8.
82. Ando Y, Maeda Y, Mizutani K, Wakatsuki N, Hagiwara S, Nabetani H. Impact of blanching and freeze-thaw pretreatment on drying rate of carrot roots in relation to changes in cell membrane function and cell wall structure. *LWT - Food Sci Technol* [Internet]. 2016;71:40–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.019>

83. Gupte SM, El-Bisi HM, Francis FJ. Kinetics of Thermal Degradation of Chlorophyll in Spinach Puree. *J Food Sci.* 1963;29:379–82.
84. Dibanda RF, Akdowa EP, Rani AP, Tongwa QM, Mbofung CMF. Effect of microwave blanching on antioxidant activity , phenolic compounds and browning behaviour of some fruit peelings. *Food Chem.* 2020;302:1–7.
85. Severini C, Giuliani R, Filippis A, Derossi A, Pilli T. Influence of different blanching methods on colour, ascorbic acid and phenolics content of broccoli. *J Food Sci Technol.* 2016;53(1):501–10.
86. Tijskens LMMU, Schijvens EPHM, Biekman ESA. Modelling the change in colour of broccoli and green beans. 2001;
87. Wawire M, Oey I, Mathooko FM, Njoroge CK, Shitanda D, Hendrickx M. Kinetics of Thermal Inactivation of Peroxidase and Color Degradation of African Cowpea (*Vigna unguiculata*) Leaves. *J Food Sci.* 2016;81(1):56–64.
88. Deylami MZ, Rahman RA, Tan CP, Bakar J, Olusegun L. Thermodynamics and kinetics of thermal inactivation of peroxidase from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) pericarp. *J Eng Sci Technol.* 2014;9(3):374–83.
89. Taherian AR, Ramaswamy HS. Kinetic considerations of texture softening in heat treated root vegetables. *Int J Food Prop.* 2009;12(1):114–28.
90. Viña SZ, Olivera DF, Marani CM, Ferreyra RM, Mugridge A, Chaves AR, et al. Quality of Brussels sprouts (*Brassica oleracea* L. *gemmifera* DC) as affected by blanching method. *J Food Eng.* 2007;80(1):218–25.
91. Silva EF, Brito FAL, Andrade D da P, Sa MJBC, Coelho DG, Barros Júnior AP, et al. Qualidade de grãos verdes de diferentes cultivares de feijão-caupi irrigado em Serra Talhada- PE. *Hortic Bras.* 2012;30:3516–22.
92. Vieira MM da S. Qualidade física, química, compostos bioativos e capacidade antioxidante em cultivares de feijão verde *Vigna unguiculata* (L.) Walp. [Dissertação (Mestrado)]. [POMBAL – PB]: Universidade Federal de Campina Grande; 2015.
93. Bezerra JM, Vieira MM da S, Santos AFS, Farias ET do R, Lopes MF, Souza A dos S. Chemical composition of eight cultivars of cowpea. *Rev Verde Agroecol e Desenvol Sustentável.* 2019;14(1):1–9.
94. Tamanini R, Cavaletti L, Silva C, Monteiro AA, Magnani DF, Barros MDAF, et al. Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná. *Semin*

- Ciências Agrárias. 2007;28(3):449–54.
95. Frighetto RTS, Terao D, Sasaki FFC, Cerqueira TS. Quantificação da respiração e de etileno em vegetais por cromatografia gasosa com detectores em série. 1st ed. Embrapa Meio Ambiente, editor. Jaguariúna -SP; 2018.
  96. Weil M, Remize F, Durand N, Alter P, Hoarau M, Meile JC. Effect of processing on microbial safety of wild pepper (*Piper borbonense*) from Reunion Island. Food Control. 2020;111(December 2019).
  97. Silva N da, Junqueira VCA, Silveira NF de A, Taniwaki MH, Gomes RAR, Okazaki MM. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 5° ed. Blucher, editor. São Paulo; 2017. 560 p.
  98. Neves FIG, Silva CLM, Vieira MC. Combined pre-treatments effects on zucchini (*Cucurbita pepo* L.) squash microbial load reduction. Int J Food Microbiol [Internet]. 2019;305(May):108257. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108257>
  99. Breidt F, Hayes JS, Fleming HP. Reduction of Microflora of Whole Pickling Cucumbers by Blanching. Food Microbiol Saf. 2000;65(8):1354–8.
  100. Gökmen V, Savaş Bahçeci K, Serpen A, Acar J. Study of lipoxygenase and peroxidase as blanching indicator enzymes in peas: Change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. LWT - Food Sci Technol. 2005;38(8):903–8.
  101. Oliveira Junior EN de, Santos CD dos, Abreu CMP de, Corrêa AD, Santos JZL. Alterações pós-colheita da “fruta-de-lobo” (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento: análises físico-químicas, químicas e enzimáticas. Rev Bras Frutic. 2004;26(3):410–3.
  102. Gonçalves CAA, Lima LCDO, Lopes PSN, Prado MET. Caracterização física, físico-química, enzimática e de parede celular em diferentes estádios de desenvolvimento da fruta de figueira. Cienc e Tecnol Aliment. 2006;26(1):220–9.
  103. Rodrigo C, Rodrigo M, Alvarruiz A, Frigola A. Inactivation and regeneration kinetics of horseradish peroxidase heated at high temperatures. J Food Prot. 1997;60(8):961–6.
  104. Thongsook T, Barrett DM. Heat Inactivation and Reactivation of Broccoli Peroxidase. J Agric Food Chem. 2005;53(8).
  105. Nandakumar R, Babu S, Viswanathan R, Raguchander T, Samiyappan R.

- Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol Biochem*. 2001;33:603–12.
106. Kuhn OJ, Pascholati SF. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil : atividade de enzimas , síntese de fenóis e lignina e biomassa . *Summa Phytopathol*. 2010;36(2):107–14.
107. Ramesh MN, Wolf W, Tevini D, Bognár A. Microwave Blanching of Vegetables. *J Food Sci*. 2002;67(1):10.
108. Wang C, Zhang B, Song L, Li P, Hao Y, Zhang J. Assessment of different blanching strategies on quality characteristics and bioactive constituents of *Toona sinensis*. *LWT - Food Sci Technol Sci Technol*. 2020;130(May):109549.

## APÊNDICES

**APÊNDICE A.** Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento sobre a atividade enzimática relativa (AER %) da peroxidase do feijão-verde.

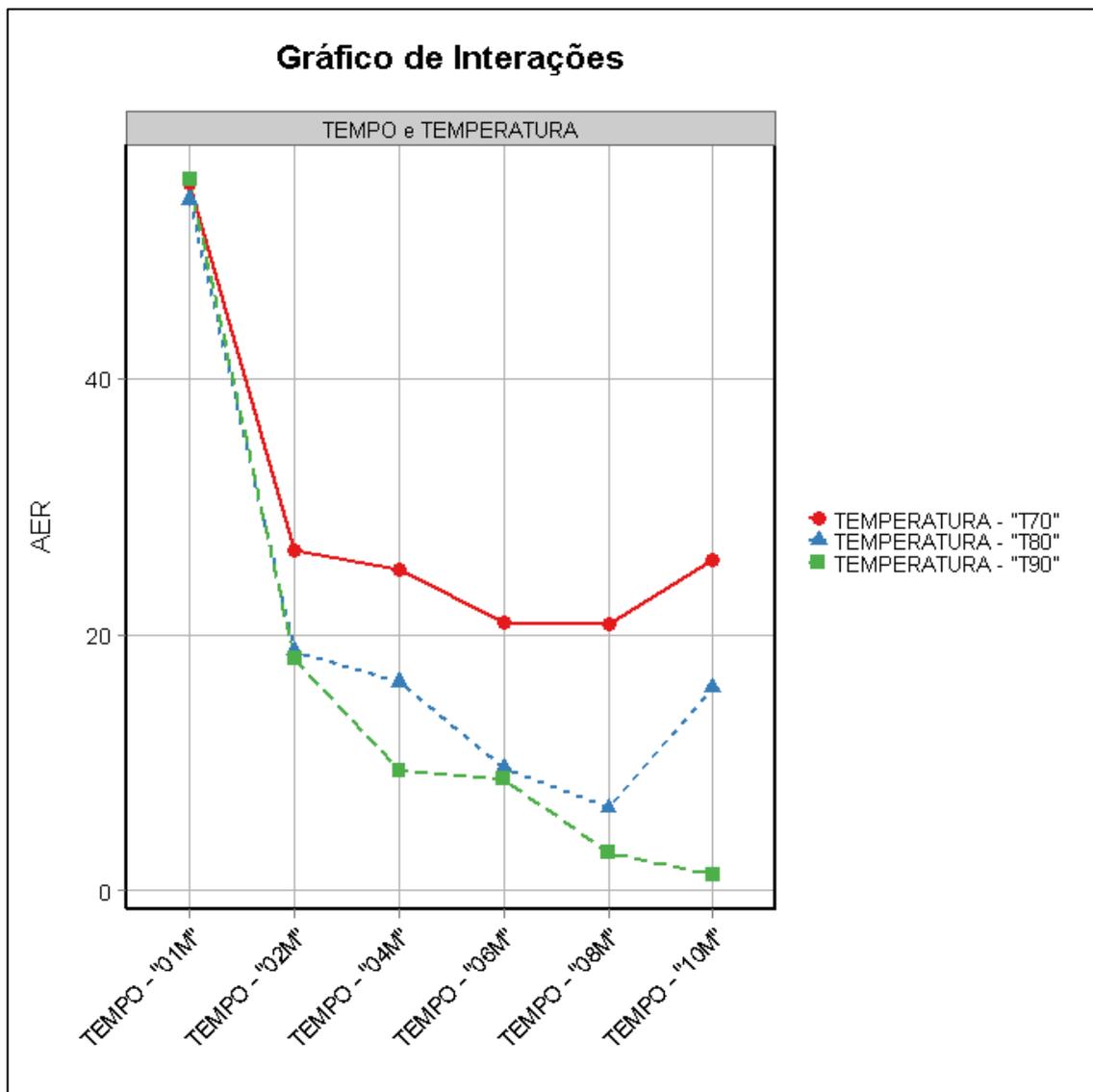
Variável e Temperatura de branqueamento (°C)	Tempo de branqueamento (minutos)						
	CONTROLE	1	2	4	6	8	10
<b>AER (%)</b>							
70	100 <sup>a</sup>	55,24 <sup>bA</sup> (1,85)	26,56 <sup>cA</sup> (6,99)	25,13 <sup>cA</sup> (1,55)	21,00 <sup>cA</sup> (2,99)	20,88 <sup>cA</sup> (0,60)	25,87 <sup>cA</sup> (2,33)
80	100 <sup>a</sup>	53,99 <sup>bA</sup> (2,64)	18,72 <sup>cA</sup> (2,61)	16,28 <sup>cdB</sup> (0,75)	9,55 <sup>deB</sup> (2,93)	6,49 <sup>eB</sup> (0,21)	15,83 <sup>cdB</sup> (2,24)
90	100 <sup>a</sup>	55,58 <sup>bA</sup> (1,67)	18,10 <sup>cA</sup> (4,30)	9,40 <sup>dC</sup> (0,50)	8,71 <sup>dB</sup> (1,61)	2,94 <sup>deC</sup> (0,08)	1,25 <sup>eC</sup> (0,58)

Médias de duas amostras (desvio padrão). Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras minúsculas, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

<sup>AB</sup> Médias com diferentes letras maiúsculas, em uma mesma coluna para cada variável, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

**APÊNDICE B.** Gráfico de interações da temperatura e tempo sobre a atividade enzimática relativa (AER %) da peroxidase do feijão-verde, submetidos ao tratamento de branqueamento.



**APÊNDICE C.** Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento na propriedade de firmeza do feijão-verde.

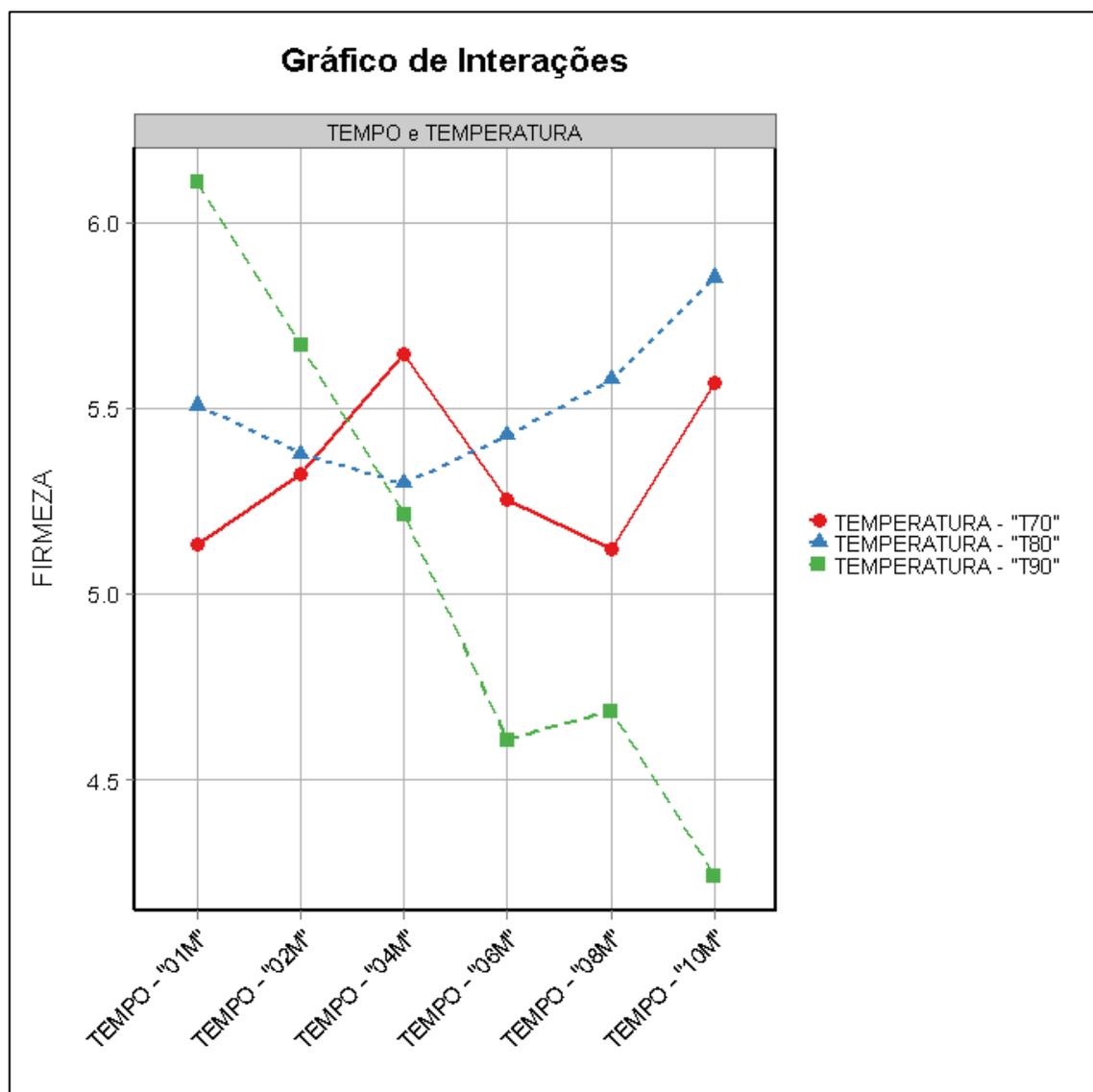
Variável e Temperatura (°C)	Tempo de branqueamento (minutos)						
	CONTROLE	1	2	4	6	8	10
<b>Firmeza (N)</b>							
70	6,92 <sup>a</sup> (0,02)	5,13 <sup>bA</sup> (0,01)	5,32 <sup>bA</sup> (0,08)	5,65 <sup>bA</sup> (0,26)	5,26 <sup>bA</sup> (0,33)	5,12 <sup>bB</sup> (0,04)	5,57 <sup>bA</sup> (0,57)
80	6,92 <sup>a</sup> (0,02)	5,51 <sup>bA</sup> (0,19)	5,38 <sup>bA</sup> (0,17)	5,30 <sup>bA</sup> (0,07)	5,43 <sup>bA</sup> (0,02)	5,58 <sup>bA</sup> (0,18)	5,85 <sup>bA</sup> (0,51)
90	6,92 <sup>a</sup> (0,02)	6,11 <sup>abA</sup> (0,62)	5,67 <sup>abcA</sup> (0,49)	5,21 <sup>bcdA</sup> (0,37)	4,61 <sup>cdA</sup> (0,28)	4,68 <sup>cdB</sup> (0,01)	4,24 <sup>dA</sup> (0,04)

Médias de duas amostras (desvio padrão). Cada amostra foi composta por 15 grãos.

<sup>abc</sup> Médias com diferentes letras minúsculas, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

<sup>ABC</sup> Médias com diferentes letras maiúsculas, em uma mesma coluna para cada variável, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

**APÊNDICE D.** Gráfico de interações da temperatura e tempo sobre a firmeza do feijão-verde, submetidos ao tratamento de branqueamento.



**APÊNDICE E.** Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento sobre o ganho de massa (%) do feijão-verde.

Variável e Temperatura de branqueamento (°C)	Tempo de branqueamento (minutos)						
	CONTROLE	1	2	4	6	8	10
<b>Ganho de massa (%)</b>							
70	0,00 <sup>d</sup>	1,89 <sup>cdA</sup> (0,15)	3,10 <sup>bcdA</sup> (0,43)	6,50 <sup>abA</sup> (2,40)	5,58 <sup>abcA</sup> (0,56)	7,56 <sup>aB</sup> (0,29)	5,88 <sup>abB</sup> (0,15)
80	0,00 <sup>c</sup>	2,66 <sup>bcA</sup> (1,33)	5,20 <sup>abA</sup> (1,70)	7,27 <sup>aA</sup> (0,42)	7,96 <sup>aA</sup> (1,11)	7,89 <sup>aB</sup> (0,70)	7,88 <sup>aB</sup> (1,25)
90	0,00 <sup>e</sup>	1,85 <sup>eA</sup> (0,07)	5,89 <sup>dA</sup> (1,27)	7,29 <sup>cdA</sup> (0,14)	8,39 <sup>bcA</sup> (0,58)	10,50 <sup>adA</sup> (0,71)	11,30 <sup>aA</sup> (0,42)

Médias de duas amostras (desvio padrão). Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras minúsculas, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

<sup>ABC</sup>. Médias com diferentes letras maiúsculas, em uma mesma coluna, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

**APÊNDICE F.** Correlação de Pearson entre o parâmetro de ganho de massa e firmeza dos grãos de feijão-verde, submetidos ao branqueamento.

Variáveis	Ganho de massa (%)		Firmeza (N)	
	r	p-valor	r	p-valor
Ganho de massa (%)	1	0	-0,640	< 0,0001
Firmeza (N)	-0,640	< 0,0001	1	0

**APÊNDICE G.** Efeito da temperatura e do tempo de branqueamento sobre a cor do feijão-verde.

Variáveis e Temperatura (°C) de branqueamento	Tempo de branqueamento (minutos)						
	CONTROLE	1	2	4	6	8	10
<b><i>L*</i></b>							
70	76,93 <sup>ab</sup> (1,35)	75,63 <sup>abA</sup> (0,96)	78,95 <sup>aA</sup> (1,90)	77,47 <sup>abA</sup> (2,02)	72,10 <sup>bA</sup> (0,93)	72,40 <sup>abA</sup> (1,27)	71,85 <sup>bA</sup> (2,72)
80	76,93 <sup>a</sup> (1,35)	75,90 <sup>aA</sup> (0,67)	75,08 <sup>aA</sup> (4,27)	75,59 <sup>aA</sup> (3,05)	72,14 <sup>aA</sup> (2,14)	73,31 <sup>aA</sup> (0,77)	71,14 <sup>aA</sup> (2,14)
90	76,93 <sup>a</sup> (1,35)	72,30 <sup>aA</sup> (3,94)	72,47 <sup>aA</sup> (2,11)	73,15 <sup>aA</sup> (1,08)	73,36 <sup>aA</sup> (3,32)	72,66 <sup>aA</sup> (0,02)	71,79 <sup>aA</sup> (2,93)
<b><i>a*</i></b>							
70	-1,73 <sup>b</sup> (0,35)	-2,07 <sup>cA</sup> (0,70)	-2,63 <sup>cA</sup> (0,29)	-2,94 <sup>cB</sup> (0,15)	-0,46 <sup>abB</sup> (0,10)	-0,35 <sup>abB</sup> (0,09)	0,58 <sup>aA</sup> (0,31)
80	-1,73 <sup>ab</sup> (0,35)	-1,79 <sup>abA</sup> (0,82)	-1,54 <sup>abA</sup> (1,59)	-2,34 <sup>bB</sup> (0,48)	-0,55 <sup>abB</sup> (0,11)	-0,61 <sup>abB</sup> (0,07)	0,77 <sup>aA</sup> (0,07)
90	-1,73 <sup>c</sup> (0,35)	-0,95 <sup>bcA</sup> (0,67)	-0,38 <sup>abA</sup> (0,38)	-0,29 <sup>abA</sup> (0,04)	0,61 <sup>aA</sup> (0,16)	0,54 <sup>aA</sup> (0,07)	0,66 <sup>aA</sup> (0,21)
<b><i>b*</i></b>							
70	15,07 <sup>a</sup> (0,18)	14,19 <sup>abcA</sup> (0,93)	14,97 <sup>abA</sup> (0,35)	14,09 <sup>abcA</sup> (0,68)	12,46 <sup>bcdA</sup> (0,38)	11,15 <sup>dA</sup> (0,45)	11,72 <sup>cdA</sup> (1,05)
80	15,07 <sup>a</sup> (0,18)	12,73 <sup>abA</sup> (0,88)	12,68 <sup>abAB</sup> (1,22)	12,46 <sup>abAB</sup> (0,56)	11,34 <sup>bA</sup> (1,14)	11,67 <sup>bA</sup> (0,20)	10,90 <sup>bA</sup> (0,85)
90	15,07 <sup>a</sup> (0,18)	11,17 <sup>abA</sup> (1,80)	11,13 <sup>abB</sup> (0,66)	11,22 <sup>abB</sup> (0,24)	11,24 <sup>abA</sup> (1,89)	12,08 <sup>abA</sup> (1,01)	10,70 <sup>bA</sup> (0,33)
<b>Croma</b>							
70	15,17 <sup>a</sup> (0,14)	14,34 <sup>abcA</sup> (1,02)	15,20 <sup>aA</sup> (0,30)	14,39 <sup>abA</sup> (0,69)	12,47 <sup>bcdA</sup> (0,38)	11,15 <sup>dA</sup> (0,45)	11,74 <sup>cdA</sup> (1,04)
80	15,17 <sup>a</sup> (0,14)	12,86 <sup>abA</sup> (0,99)	12,81 <sup>abAB</sup> (1,40)	12,68 <sup>abAB</sup> (0,63)	11,35 <sup>bA</sup> (1,15)	11,68 <sup>abA</sup> (0,21)	10,93 <sup>bA</sup> (0,85)
90	15,17 <sup>a</sup> (0,14)	11,22 <sup>abA</sup> (1,85)	11,14 <sup>abB</sup> (0,67)	11,22 <sup>abB</sup> (0,24)	11,26 <sup>abA</sup> (1,87)	12,09 <sup>abA</sup> (1,00)	10,72 <sup>aA</sup> (0,34)

Médias de duas amostras (desvio padrão). Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup> Médias com diferentes letras minúsculas, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

<sup>ABC</sup> Médias com diferentes letras maiúsculas, em uma mesma coluna para cada variável, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

**APÊNDICE H.** Parâmetros físico-químicos de potencial hidrogeniônico (pH) e acidez titulável durante o período de armazenamento sob refrigeração do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).

Variável e Amostras	Período de armazenamento (dias)							
	0	2	4	6	8	10	12	14
<b>pH</b>								
FVI	6,79 <sup>a</sup> (0,05)	6,79 <sup>a</sup> (0,11)	6,56 <sup>bc</sup> (0,09)	6,54 <sup>bc</sup> (0,16)	6,64 <sup>ab</sup> (0,10)	6,42 <sup>c</sup> (0,07)	6,45 <sup>c</sup> (0,05)	6,40 <sup>c</sup> (0,02)
FVB	6,66 <sup>bc*</sup> (0,04)	6,81 <sup>a</sup> (0,11)	6,76 <sup>ab*</sup> (0,06)	6,69 <sup>bc</sup> (0,05)	6,69 <sup>bc</sup> (0,05)	6,70 <sup>abc*</sup> (0,05)	6,62 <sup>c*</sup> (0,03)	6,66 <sup>bc*</sup> (0,07)
<b>ATT (% ácido cítrico m/V)</b>								
FVI	0,33 <sup>c</sup> (0,00)	0,27 <sup>d</sup> (0,02)	0,30 <sup>cd</sup> (0,02)	0,47 <sup>ab</sup> (0,02)	0,45 <sup>b</sup> (0,02)	0,47 <sup>ab</sup> (0,04)	0,50 <sup>a</sup> (0,01)	0,50 <sup>a</sup> (0,01)
FVB	0,31 <sup>c*</sup> (0,00)	0,29 <sup>c</sup> (0,02)	0,31 <sup>c</sup> (0,03)	0,32 <sup>c*</sup> (0,01)	0,36 <sup>b*</sup> (0,01)	0,37 <sup>b*</sup> (0,01)	0,37 <sup>b*</sup> (0,00)	0,43 <sup>a*</sup> (0,04)

Médias de duas amostras (desvio padrão). Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

\* Médias seguidas de asterisco, em uma mesma coluna, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) da amostra controle (FVI) segundo o teste t.

**APÊNDICE I.** Alterações microbiológicas durante o período de armazenamento em refrigeração do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).

Variável e Amostras	Período de armazenamento (dias)							
	0	2	4	6	8	10	12	14
<b>Mesófilos (Log UFC/g)</b>								
FVI	7,38 <sup>b</sup> (0,03)	7,37 <sup>b</sup> (0,02)	7,33 <sup>b</sup> (0,08)	7,71 <sup>a</sup> (0,14)	7,62 <sup>a</sup> (0,09)	-	-	-
FVB	0,00 <sup>b*</sup> (0,00)	0,00 <sup>b*</sup> (0,00)	0,00 <sup>b*</sup> (0,00)	0,00 <sup>b*</sup> (0,00)	0,00 <sup>b*</sup> (0,00)	4,30 <sup>a</sup> (0,17)	4,23 <sup>a</sup> (0,09)	4,71 <sup>a</sup> (1,19)
<b>Psicrotróficos (Log UFC/g)</b>								
FVI	0,00 <sup>c</sup> (0,00)	5,53 <sup>b</sup> (0,12)	6,09 <sup>a</sup> (0,28)	6,27 <sup>a</sup> (0,10)	6,30 <sup>a</sup> (0,04)	-	-	-
FVB	0,00 <sup>c</sup> (0,00)	0,00 <sup>c*</sup> (0,00)	0,00 <sup>c*</sup> (0,00)	0,00 <sup>c*</sup> (0,00)	0,00 <sup>c*</sup> (0,00)	3,26 <sup>b</sup> (0,30)	3,46 <sup>b</sup> (0,11)	4,55 <sup>a</sup> (1,10)

Médias de duas amostras (desvio padrão). Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

\* Médias seguidas de asterisco, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) da amostra controle (FVI) segundo o teste t.

**APÊNDICE J.** Efeito do branqueamento na atividade enzimática da peroxidase (U/g) durante o período de armazenamento sob refrigeração do feijão-verde in natura (FVI) e feijão-verde branqueado (FVB).

Variável e Amostras	Período de armazenamento (dias)							
	0	2	4	6	8	10	12	14
<b>Atividade da Peroxidase (U/g)</b>								
FVI	3,15 <sup>a</sup> (0,40)	3,10 <sup>a</sup> (0,35)	2,95 <sup>ab</sup> (0,45)	2,51 <sup>abc</sup> (0,45)	2,59 <sup>abc</sup> (0,38)	2,06 <sup>c</sup> (0,61)	2,12 <sup>c</sup> (0,14)	2,24 <sup>bc</sup> (0,07)
FVB	1,85 <sup>d*</sup> (0,04)	1,82 <sup>d*</sup> (0,07)	1,85 <sup>d*</sup> (0,03)	1,84 <sup>d*</sup> (0,52)	1,97 <sup>cd*</sup> (0,44)	3,15 <sup>ab*</sup> (0,22)	2,58 <sup>bc</sup> (0,56)	3,62 <sup>a*</sup> (0,31)

Médias de duas amostras (desvio padrão). Cada amostra foi analisada em triplicata.

<sup>abc</sup>. Médias com diferentes letras, em uma mesma linha, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

\* Médias seguidas de asterisco, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) da amostra controle (FVI) segundo o teste t.

**ANEXO**

**ANEXO A.** Certidão de cadastro de acesso ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN).



**Ministério do Meio Ambiente  
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

**Certidão  
Cadastro nº AF4C703**

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **AF4C703**  
 Usuário: **UFRN**  
 CPF/CNPJ: **24.365.710/0001-83**  
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**  
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

**Espécie**

**Vigna unguiculata (L.) Walp**

Título da Atividade: **DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE BRANQUEAMENTO PARA O BENEFICIAMENTO DO FEIJÃO-VERDE [Vigna unguiculata (L.) Walp.]**

**Equipe**

<b>Karla Suzanne Florentino da Silva Chaves Damasceno</b>	<b>UFRN</b>
<b>Romayana Medeiros de Oliveira Tavares</b>	<b>UFRN</b>
<b>Roberto Rodrigues Cunha Lima</b>	<b>IFRN</b>
<b>Priscilla Moura Rolim Madeira</b>	<b>UFRN</b>
<b>Cristiane Fernandes de Assis</b>	<b>UFRN</b>

Data do Cadastro: **01/09/2019 23:15:33**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **20:45** de **30/09/2020**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
 ASSOCIADO - **SISGEN**