

Área: Ciência dos Alimentos

MAÇÃ CV. FUJI MINIMAMENTE PROCESSADA E TRATADA COM DIFERENTES ANTIOXIDANTES: ATIVIDADE DAS ENZIMAS PEROXIDASE E POLIFENOLOXIDASE

¹Jardel Araujo Ribeiro*, ¹Maurício Seifert, ¹Leonardo Nora, ²Rufino Fernando Flores Cantillano, ²Carla Ferreira Silveira

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, ²Embrapa – Clima Temperado, Núcleo de Alimentos, Pelotas, RS

*E-mail: jardel2a1@hotmail.com

RESUMO – Neste trabalho, avaliou-se o efeito de diferentes antioxidantes na atividade das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PFO) em maçãs cv. Fuji minimamente processadas e armazenadas em câmara fria a 4 °C por até 9 dias. As maçãs, cortadas em gomos e sanitizadas foram imersas por 1 min em diferentes antioxidantes e acondicionadas em bandejas de polietileno. A avaliação das enzimas POD e PFO ocorreram na instalação do experimento (0 dias) e após 3 dias, 6 dias e 9 dias de armazenamento. A adição de L-cisteína 6% proporcionou menor atividade da enzima POD, enquanto o ácido eritórbito 1% apresentou menor atividade da enzima PFO apenas na avaliação feita imediatamente após o processamento.

Palavras-chave: processamento mínimo; qualidade; fruta de clima temperado; pós-colheita

1. INTRODUÇÃO

A maçã (*Malus domestica* Borkh) é uma fruta amplamente cultivada, consumida e comercializada em todo o mundo, principalmente devido à sua disponibilidade ao longo de todo o ano. No entanto, grande parte da sua safra no Brasil é colhida entre janeiro e abril, sendo armazenada por períodos entre 7 e 12 meses dependendo da cultivar. Sua utilização como produto minimamente processado pode agregar valor, acelerar o consumo e reduzir as perdas para níveis próximos à zero, e contribuir para uma alimentação saudável, visto que a maçã é uma fonte de açúcares, ácidos e vários compostos biologicamente ativos (CENCI, 2011; FAGUNDES, 2009; PEREIRA, 2014). Entende-se por minimamente processados (MP) os vegetais que foram manipulados com o propósito de alterar a sua apresentação para consumo sem que estes percam as características do fruto fresco. Entretanto, durante o processamento mínimo (PM) ocorrem alterações físicas e fisiológicas que afetam a viabilidade e a qualidade do produto (SALTVEIT, 1997; WILEY, 1994). Uma preocupação que deve ser levada

em consideração nas etapas envolvidas do PM é a potencial perda de fitonutrientes e outros agentes antioxidantes por meio de reações oxidativas (enzimáticas e não-enzimáticas) que ocorrem nas superfícies cortadas ou durante o armazenamento. Após o corte, ocorre a ruptura celular e a ação das enzimas POD, PFO e de outras enzimas que podem diminuir a qualidade do produto (MORETTI, 2007).

A enzima POD não está isolada nos frutos, mas sim como grupos de isoenzimas, cuja versatilidade e quantidade de reações associadas a ela é superior a qualquer outra conhecida, sendo ela classificada como uma enzima oxirredutora e participa de numerosos processos fisiológicos. Entre eles: perda de coloração, sabor, textura e nutrientes, porém, sua função não se restringe a aspectos negativos, pois ela é fundamental no desenvolvimento de sabor e cor dos alimentos (LIMA et al., 2001; SHINTANI et al., 2006). Ao passo que a enzima polifenoloxidase (PFO) destaca-se por ser responsável pelo escurecimento característico que acompanha a maturação. Por oxidação, essa enzima converte componentes fenólicos em quinonas instáveis que posteriormente são polimerizadas, sendo os produtos formados responsáveis pela formação de pigmentos escuros (SHINTANI et al., 2006). Uma das alternativas para a inibição da POD e da PFO em vegetais MP é o uso de agentes antioxidantes, que inibem a ação destas enzimas e conseqüentemente o escurecimento, que é uma das principais características que o consumidor observa antes da compra (KLUGE et al., 2014).

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de diferentes concentrações de agentes antioxidantes nas enzimas peroxidase e polifenoloxidase em maçãs cultivar Fuji, minimamente processadas e armazenadas em câmara fria com temperatura aproximada de 4 °C por até 9 dias.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi conduzido no Núcleo de Alimentos/Laboratório de Fisiologia Pós-colheita da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, com maçãs cv. Fuji provenientes do pomar da empresa Rasip Agropastoril S.A., Vacaria/RS. As frutas inteiras ficaram armazenadas em câmara fria a ± 1 °C e umidade relativa (UR) entre 90 – 95 %. Antes do processamento mínimo, as maçãs foram sanitizadas por imersão em uma solução de hipoclorito de sódio 200 ppm por 10 minutos, em seguida foram cortadas em quatro fatias em formato de gomos, retirando-se a parte central com as sementes deixando a epiderme.

Logo, as fatias dos frutos foram imersas por um minuto em cada um dos seguintes tratamentos: tratamento 1 (T1): Controle - água destilada; tratamento 2 (T2): L-cisteína 0,6 %; tratamento 3 (T3): Ácido eritórbito 1%; tratamento 4 (T4): Ácido eritórbito 2%; tratamento 5 (T5): Ácido eritórbito 3%; tratamento 6 (T6): Ácido kójico 0,03%; tratamento 7 (T7): Ácido kójico 0,05% e tratamento 8 (T8): Ácido kójico 0,07%. A continuação, as maçãs fatiadas foram retiradas e colocadas em escorredores por 5 minutos para retirar o excesso de solução. Após, colocou-se cinco fatias de maçã em bandeja de poliestireno e estas foram embaladas com filme PVC esticável 9 micra, sendo as mesmas armazenadas por quatro períodos: 0 dias (P1), 3 dias (P2), 6 dias (P3) e 9 dias (P4) em câmara fria a uma temperatura aproximada de 4 °C e UR de ± 90 %. Para avaliar o efeito dos antioxidantes utilizados neste trabalho, foi realizada a determinação da atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase de acordo com a metodologia adaptada de Cano et al., (1997).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial composto por oito tratamentos com antioxidantes e quatro períodos de armazenamento (8 x 4), a unidade experimental, constituída

por uma bandeja com cinco gomos de maçã com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), quando este foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase foi afetada significativamente pela interação entre os tratamentos e os períodos de armazenamento nas maçãs cv. Fuji minimamente processadas e tratadas com antioxidantes. Observou-se que no P1 a testemunha (maçã sem adição de nenhum antioxidante) e o T5 foram os tratamentos que apresentaram menor atividade da enzima POD, porém, estes tratamentos não diferiram estatisticamente dos tratamentos T2, T6 e T7.

Tabela1. Atividade da enzima polifenoloxidase (absorbância $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de massa fresca) em maçãs cv. Fuji minimamente processadas e armazenadas por diversos períodos, P1(0 dias), P2 (3 dias), P3(6 dias) e P4(9 dias).

Tratamentos	Enzima Peroxidase (POD)							
	Períodos (P)							
	P1		P2		P3		P4	
T1	b 249,42	C	b 233,15	AB	b 390,40	D	a 1648,35	A
T2	a 355,15	ABC	b 127,42	A	b 165,37	E	a 311,77	C
T3	b 463,60	A	c 249,42	AB	b 382,26	D	a 848,57	B
T4	b 417,51	AB	b 401,24	B	b 469,02	BCD	a 1599,55	A
T5	c 300,93	C	c 303,64	B	b 618,13	AB	a 978,71	B
T6	c 349,73	ABC	c 395,82	B	b 639,82	A	a 1550,75	A
T7	b 347,02	BC	b 390,40	B	b 569,33	ABC	a 1024,80	B
T8	b 425,64	AB	b 406,66	B	b 444,63	CD	a 1089,86	B

T1: Controle - água destilada; T2: L-cisteína 0,6 %; T3: Ácido eritórbito 1%; T4: Ácido eritórbito 2%; T5: Ácido eritórbito 3%; T6: Ácido kójico 0,03%; T7: Ácido kójico 0,05% e T8: Ácido kójico 0,07%. Médias seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos (P), médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos (T) pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$).

A partir do 6º dia de armazenamento (P3), com exceção da L-cisteína 0,6% (T2), todos os outros tratamentos apresentaram um aumento na atividade enzimática. A L-cisteína é um aminoácido que contém um grupo tiol, com ação redutora; seu poder de inibição do escurecimento varia de acordo com a razão de concentração cisteína/composto fenólico, age reduzindo θ -quinonas de volta ao seu precursor θ -difenoil, impedindo a formação de pigmentos escuros ou reagindo com θ -quinonas para produzir compostos incolores (RICHARD-FORGET et al., 1992). O comportamento da POD observado neste experimento foi similar ao descrito por outros pesquisadores. Marin e Cano (1992) estudaram o comportamento da peroxidase durante o

amadurecimento de manga, variedades Lippens e Smith e também observaram um aumento na atividade da POD nos doze primeiros dias de avaliação.

Tabela 2. Atividade da enzima polifenoloxidase (absorbância $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de massa fresca) em maçãs cv. Fuji minimamente processadas e armazenadas por diversos períodos: P1 (0 dias), P2 (3 dias), P3(6 dias) e P4 (9 dias).

Tratamentos	Enzima Polifenoloxidase (PFO)											
	Períodos (P)											
	P1		P2		P3		P4					
T1	d	90,63	CD	a	132,56	A	c	113,16	A	b	122,66	A
T2	c	104,80	B	a	129,76	AB	b	117,56	A	ab	122,70	A
T3	c	72,76	E	a	126,90	ABC	b	111,46	A	a	121,06	A
T4	b	82,06	D	a	121,86	BC	a	118,50	A	a	122,63	A
T5	b	89,46	CD	a	125,30	ABC	a	114,13	A	a	119,90	A
T6	b	96,13	C	a	120,60	C	a	118,90	A	a	119,06	A
T7	a	129,86	A	ab	124,70	ABC	b	115,06	A	a	127,00	A
T8	a	126,46	A	a	124,36	ABC	b	116,30	A	ab	118,56	A

T1: Controle - água destilada; T2: L-cisteína 0,6 %; T3: Ácido eritórbito 1%; T4: Ácido eritórbito 2%; T5: Ácido eritórbito 3%; T6: Ácido kójico 0,03%; T7: Ácido kójico 0,05% e T8: Ácido kójico 0,07%. Médias seguidas de letras distintas minúsculas na linha indicam diferença significativa entre os períodos (P), médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos (T) pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$).

Os valores médios da atividade da enzima PFO (Tabela 2) encontrados neste trabalho variaram entre 72,72 e 132,56 (absorbância $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de massa fresca), quantidade inferior às encontradas por Martins (2010) em pêssegos cv. Aurora 1. Avaliando o comportamento dos antioxidantes em cada um dos períodos de armazenamento, observou-se que no P1 os tratamentos que apresentaram maior atividade foram T7 e T8 em contraposto a este tratamento está o ácido eritórbito 1% (T3). Nos períodos P3 e P4 não houve diferença estatística entre nenhum dos tratamentos. Ao longo dos nove dias de armazenamento em câmara fria a $\pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$ observa-se que o tratamento T7 e o T8 apresentaram um decréscimo na atividade da PFO entre o P1 e o P3; enquanto que os outros (T1, T2, T3, T4, T5 e T6) apresentaram um aumento significativo na atividade enzimática a partir do terceiro dia de armazenamento (P2, P3 e P4) a $\pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$. Jeong et al. (2008), trabalhando com maçãs cv. Fuji armazenadas a $4 \text{ }^\circ\text{C}$, também observaram aumento da atividade enzimática em até 3 dias de armazenamento. Depois deste período, observaram um decréscimo da atividade enzimática, resultado oposto ao encontrado neste trabalho; entretanto, Hartwig et al. (2014) encontraram resultados semelhantes aos observados neste experimento.

4. CONCLUSÃO

As maçãs cv. Fuji minimamente processadas, armazenadas a ± 4 °C e tratadas com L-cisteína 0,6% foram as que apresentaram menor atividade da enzima peroxidase (POD), enquanto na enzima polifenoloxidase (PFO) observa-se que o ácido eritórbito 1% foi o antioxidante que proporcionou menor atividade da PFO apenas na avaliação feita imediatamente após o processamento (P1).

5. AGRADECIMENTOS

A CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado, a Rasip Agropastoril S.A., a Embrapa Clima Temperado e ao PPGCTA/UFPel pela disponibilização de material e infra-estrutura para realizar esse trabalho.

6. REFERÊNCIAS

- CANO, M. P.; DE ANCOS, B.; CRUZ MATAALLANA, M.; CAMARA, M.; REGLERO, G.; TABERA, J. Differences among Spanish and Latin-American banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, Kidlington, v.59, p.411-419, 1997.
- CENCI, S. A. Processamento mínimo de frutas e hortaliças: tecnologia, qualidade e sistemas de embalagem. **Embrapa Agroindústria de Alimentos**. Rio de Janeiro. 144 p. 2011.
- FAGUNDES, C. Estudo cinético do processamento mínimo de maçã (*Malus Domestica* B.) var. Gala: influência da temperatura na taxa respiratória e nos parâmetros físico-químicos e sensoriais. 2009. 116 f. (Dissertação) - **Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos**, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina. 2009.
- HARTWIG, E.S.; NOGUEIRA, D.; MENDONÇA, C. R. B.; da SILVA, J. D. F.; ALVES, M. A. M.; BORGES, C.D. Utilização das enzimas peroxidases do nabo no controle do escurecimento enzimático em maçãs minimamente processadas. **Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, n. 20, Santa Catarina, 2014.
- JEONG, H. L.; JIN, W. J.; KWANG, D. M.; KEE, J. P. Effects of anti-browning agents on polyphenoloxidase activity and total phenolics as related to browning of fresh-cut 'Fuji' apple. **ASEAN Food Journal**, v. 15, n. 1, p.79 – 87, 2008.
- KLUGE, R .K.; GEERDINK, G.M.; TEZOTTO-ULIANA, J.V.; GUASSI, S.A.D.; ZORZETO, T.Q.; SASAKI, F.F.C.;MELLO, S.C. Qualidade de pimentões amarelos minimamente processados tratados com antioxidantes. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 801-812, mar./abr. 2014.
- LIMA, E. D. P. A.; PASTORE, G. M.; LIMA, C. A. A. Purificação da enzima polifenoloxidase (PFO) de polpa de pinha (*Annona squamosa* L.) madura. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, jan-abr 2001.
- SHINTANI, L.K.; TADINI, C.C.; SUGAI, A.Y. Inativação térmica da peroxidase presente no purê de manga *Mangifera indica* Linn.) variedade **Palmer**. **Produção em Iniciação Científica da Escola Politécnica da USP**, n.3, 1794-1815, 2006.

- MARIN, M. A., CANO, M. P. Patterns of peroxidase in ripening mango (*Mangifera indica*, L.) fruits. **Journal of Food Science**, 57(3), p.690-692, 1992.
- MARTINS, R. N., Processamento mínimo de pêssegos “Aurora-1”: estágios de maturação, embalagens, temperaturas de conservação e aditivos naturais. 2010. 134 f. (Tese) – UNESP, Jaboticabal, São Paulo. 2010.
- MORETTI, C. L. Editor. Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças. **Embrapa Hortaliças**. 531 p. Brasília. 2007.
- PEREIRA, A. S. G. Avaliação da bioacessibilidade de compostos antioxidantes em variedades de maçã produzidas em Portugal. 69 f. Dissertação (Mestrado) - **Tecnologia e Segurança Alimentar** – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa. 2014.
- RICHARD-FORGET, F.C. et al. Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. 2. kinetic studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, n.11, p.2.108-2.113, 1992.
- SALTVEIT, M. E. Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. In: TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ROBINS, R. J. (Ed.), **Phytochemistry of fruit and vegetables**. London: Oxford University Press, p. 205-220. 1997.
- WILEY, R.C. Minimally processed refrigerated fruits & vegetables. **Chapman e Hall**, New York. p.368. 1994.