



ANÁLISES DOS MÉTODOS MAIS EFICIENTES NA INIBIÇÃO DO ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO EM FRUTAS E HORTALIÇAS

Aline Francieli de Souza¹ e Marcelo Franco Leão²

1. Acadêmica do nono semestre do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, *Campus* de Barra do Bugres, MT, Brasil. (aliny_fran@hotmail.com)
2. Professor de Química Orgânica e Química Analítica do Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT. Tutor do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Mato Grosso – IFMT/UAB.

Recebido em: 06/10/2012 – Aprovado em: 15/11/2012 – Publicado em: 30/11/2012

RESUMO

Objetivou-se neste trabalho, avaliar os métodos mais eficientes para inibir o escurecimento enzimático em frutas e hortaliças. Testaram-se três métodos: redução de pH, remoção de oxigênio e calor. No procedimento da redução do pH foram usados os ácidos: ascórbico 1,0%, cítrico 1,0%, acético 0,1% e 1,0%. Para a remoção do oxigênio utilizou-se papel filme PVC e para o método do calor o branqueamento. Assim, concluiu-se que o método mais eficiente para a inibição do escurecimento enzimático foi o de redução do pH com o ácido ascórbico 1,0%. O branqueamento foi eficiente na intensificação da coloração. A remoção do oxigênio teve resultados favoráveis para a batata e a cenoura.

PALAVRAS-CHAVE: Escurecimento enzimático, ácido ascórbico, branqueamento.

ANALYSIS METHODS OF MORE EFFICIENT IN INHIBITING ENZYMATIC BROWNING IN FRUITS AND VEGETABLES

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the most effectively to inhibit enzymatic browning in bananas, potatoes, carrots and apples. Were tested three methods: reduction of pH, removal of oxygen and heat. In procedure of lowering the pH acids were used: ascorbic acid 1.0%, 1.0% citric acid, acetic acid 0.1% and 1.0%. For removal of oxygen was used film and paper for method of heat bleaching. Thus, we concluded that the most efficient method for the inhibition of browning enzymatic reduction of the pH with ascorbic acid 1.0%. The bleaching was effective in intensifying color. The removal of oxygen had favorable results for the potatoes and carrots.

KEYWORDS: Enzymatic browning, ascorbic acid, bleaching.

INTRODUÇÃO

Um dos fatores importantes que determinam a qualidade dos frutos e hortaliças é a manutenção da cor natural. Mudanças na coloração durante a colheita, pós-colheita, processamento e armazenamento acarretam uma queda de qualidade, quando não controlados, tornando-se um grande desafio na elaboração desses produtos. O escurecimento enzimático é um fenômeno amplamente difundido que induz severas mudanças de cor, sabor indesejável e perdas nutricionais (COSTA, 2010).

O escurecimento enzimático ocorre devido a presença da enzima polifenoloxidase (PPO), uma enzima que catalisa a oxidação de compostos fenólicos, produzindo pigmentos escuros em cortes ou superfícies danificadas de frutas e hortaliças. O escurecimento enzimático não ocorre em células intactas, porque os compostos fenólicos que se encontram nos vacúolos celulares ficam separados dessa enzima que fica armazenada nos plastos. Quando o tecido é danificado pelo corte ou por injúrias, a enzima entra em contato com seu substrato e há formação de pigmentos escuros devido a exposição ao oxigênio (OLIVEIRA, 2008).

SILVA *et al.*, (2009), afirmam que as polifenoloxidases (PPO) (1,2 benzenodiol: oxigênio óxido-redutase) são denominadas frequentemente de tirosinase, polifenolase, fenolase, catecol oxidase, creolase ou catecolase, dependendo dos substratos utilizados na reação de escurecimento dos tecidos vegetais. As PPO são encontradas nas plantas, animais e em alguns microrganismos, especialmente nos fungos. São três as reações catalisadas pela PPO na presença do oxigênio molecular: a hidroxilação de monofenóis para o-difenóis (atividade monoxigenase, E.C. 1.14.18.1), a oxidação de o-difenóis para o-quinonas (atividade difenoloxidase, E.C. 1.10.3.1), e a oxidação de p-difenóis a p-quinonas (atividade lacase, E.C. 1.10.3.2).

Assim como a PPO, as peroxidases (POD) (E.C. 1.11.1.7) têm atividade típica na reação de oxidação de compostos fenólicos em presença de peróxido de hidrogênio. Também são obtidas quinonas instáveis como produto e após a oxidação não enzimática na presença de O₂, ocorre a polimerização formando as melaninas (SILVA *et al.*, 2009).

O controle do escurecimento enzimático pode ser feito através de métodos físicos e/ou químicos. Métodos físicos incluem redução de temperatura ou inativação térmica da enzima, proteção do produto contra oxigênio, desidratação, uso de atmosfera modificada, embalagens ativas e outros. Métodos químicos envolvem o uso de compostos antioxidantes que inibem a ação da enzima. A inativação enzimática da PPO por aquecimento é possível aplicando temperaturas superiores a 50°C, porém isso pode produzir cores e *flavors* indesejáveis, como também mudanças na textura (OLIVEIRA, 2008).

O ácido ascórbico e seus sais neutros, reconhecidos por sua ação redutora e contribuição nutricional (vitamina C), são os principais antioxidantes para o uso em frutas, hortaliças e seus sucos, visando prevenir o escurecimento e outras reações oxidativas. Ele atua sequestrando o cobre, grupo prostético da PPO, e reduzindo as quinonas de volta a fenóis, antes de formarem pigmentos escuros (COSTA, 2010).

O ácido cítrico é um dos principais ácidos orgânicos naturais em frutas, previne o escurecimento enzimático pela ação sobre PPO e PDO. Também é utilizado para potencializar outros antioxidantes como o ácido ascórbico. O ácido

cítrico, em conjunto com o ácido ascórbico é muito utilizado para inibir a alteração de cor (CARDOSO, 2007).

O armazenamento de frutas em simples embalagens plásticas, ou em sofisticados filmes poliméricos constitui uma ótima maneira de manipular a atmosfera ao seu redor. A modificação da atmosfera com uma embalagem plástica pode ser estabelecida de forma passiva ou ativa. Na modificação ativa é feita uma injeção de gases na embalagem, no momento em que o produto é armazenado nela, já na passiva, a modificação se estabelece pela própria respiração do produto e a permeabilidade do material de embalagem. Existem várias formulações de policloreto de vinila (PVC) que são utilizadas na produção de filmes. Os filmes de PVC apresentam uma taxa de permeabilidade ao vapor de água moderada e podem apresentar altas taxas de permeabilidade ao oxigênio e dióxido de carbono, o que permite sua utilização em embalagens para frutas e hortaliças minimamente processadas (COSTA, 2010).

Entre os diversos processos de conservação, o branqueamento é bastante utilizado em vegetais como um pré-tratamento com a finalidade de inativar enzimas, ajudar na limpeza, reduzir a carga microbiana da superfície do alimento, eliminar ar e gases existentes nos tecidos, impedir a despigmentação, desenvolver sabor característico e pré-aquecer o produto (EVANGELISTA, 2003).

De acordo com ORSO *et al.*, (2011) o branqueamento tem como objetivos principais inativar enzimas, manter a consistência firme, e as propriedades organolépticas, eliminar o ar presente nos interstícios celulares, estruturas responsáveis pela ocorrência de oxidações indesejáveis, e promover a desinfecção parcial de frutas e hortaliças destinadas ao congelamento. Grande parte das enzimas é destruída por aquecimento entre 70 e 80°C, durante um intervalo de tempo que varia de dois a cinco minutos. A PPO não pertence as enzimas estáveis ao calor, quando expostas a temperatura de 70 a 90°C por um curto período de tempo são, na maioria dos casos, destruídas parcial ou total em relação a sua função catalítica (SANTOS, 2009).

Este estudo tem por objetivo analisar a eficiência dos métodos de controle na inibição do escurecimento oxidativo em frutas e hortaliças.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais e posteriores análises foram realizados nos Laboratórios de Processamento de Alimentos e de Química, da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, em outubro de 2010.

Os métodos de inibição do escurecimento enzimático escolhidos foram: a remoção ou exclusão do substrato oxigênio através de embalagem utilizando filme PVC, a inativação térmica da enzima pelo branqueamento e redução do pH em duas ou mais unidades abaixo do pH 6 considerado ótimo para a ação da PPO. Não optou-se pela adição de substâncias redutoras que inibam a ação da PPO e, consequentemente, previnam a formação da melanina.

As frutas e hortaliças eleitas para a investigação, maçã, banana, batata e cenoura, foram selecionadas do comércio varejista da cidade de Barra do Bugres - MT, de acordo com sua fisionomia (coloração da casca, deteriorações visíveis, textura, entre outras). Posteriormente foram lavadas em solução de água e sabão neutro.

A seguir foram efetuados os testes para verificar a eficiência do método no que tange a proteção contra a oxidação destes vegetais.

Para o método de redução do pH, as frutas e hortaliças foram cortadas em pedaços uniformes, de 2 g cada, e imersas em placas de Petri contendo vários tipos de ácidos, em várias concentrações. Os ácidos utilizados foram o ascórbico a 1,0%, o ácido acético nas concentrações de 0,1% e 1,0% e o ácido cítrico 1,0%. As observações e análises das amostras foram efetuadas com intervalos de cinco em cinco minutos, totalizando 50 minutos.

Para o método de remoção do oxigênio, as amostras foram embrulhadas por uma embalagem de papel filme de PVC, na tentativa de chegar ao mais aproximado da condição de atmosfera controlada, o que excluiria o substrato oxigênio impedindo que aconteça a oxidação. As amostras foram cortadas em pedaços uniformes de 2 g cada, e imediatamente embaladas. A verificação da eficiência foi realizada em intervalos de 10 em 10 minutos, totalizando 60 minutos.

No método de inativação térmica da enzima, foi realizado o procedimento de branqueamento. Em um recipiente metálico foram adicionados 500 mL de água. Ao atingir a temperatura de 100°C, os vegetais foram imersos permanecendo por três minutos. Imediatamente a seguir, os mesmos foram imersos em água fria com temperatura de 10°C, embaladas em papel alumínio e congelados a temperatura de 4°C por 48 horas. Transcorrido esse tempo os resultados foram analisados.

Em todos os procedimentos, as amostragens foram efetuadas em duplicatas e comparadas com um grupo controle que consistiu na amostra de cada fruta e hortaliça *in natura* em contato direto com o ar.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Depois de todos os testes realizados, os resultados obtidos foram dispostos na figura 1 e nas Quadros 1 e 2.

Primeiramente são apresentados os resultados do método de imersão em ácidos orgânicos para cada fruta e hortaliças usadas neste experimento. Depois tem-se os resultados do método de proteção contra o oxigênio com uso de papel filme PVC, como também do método de inativação térmica da enzima.

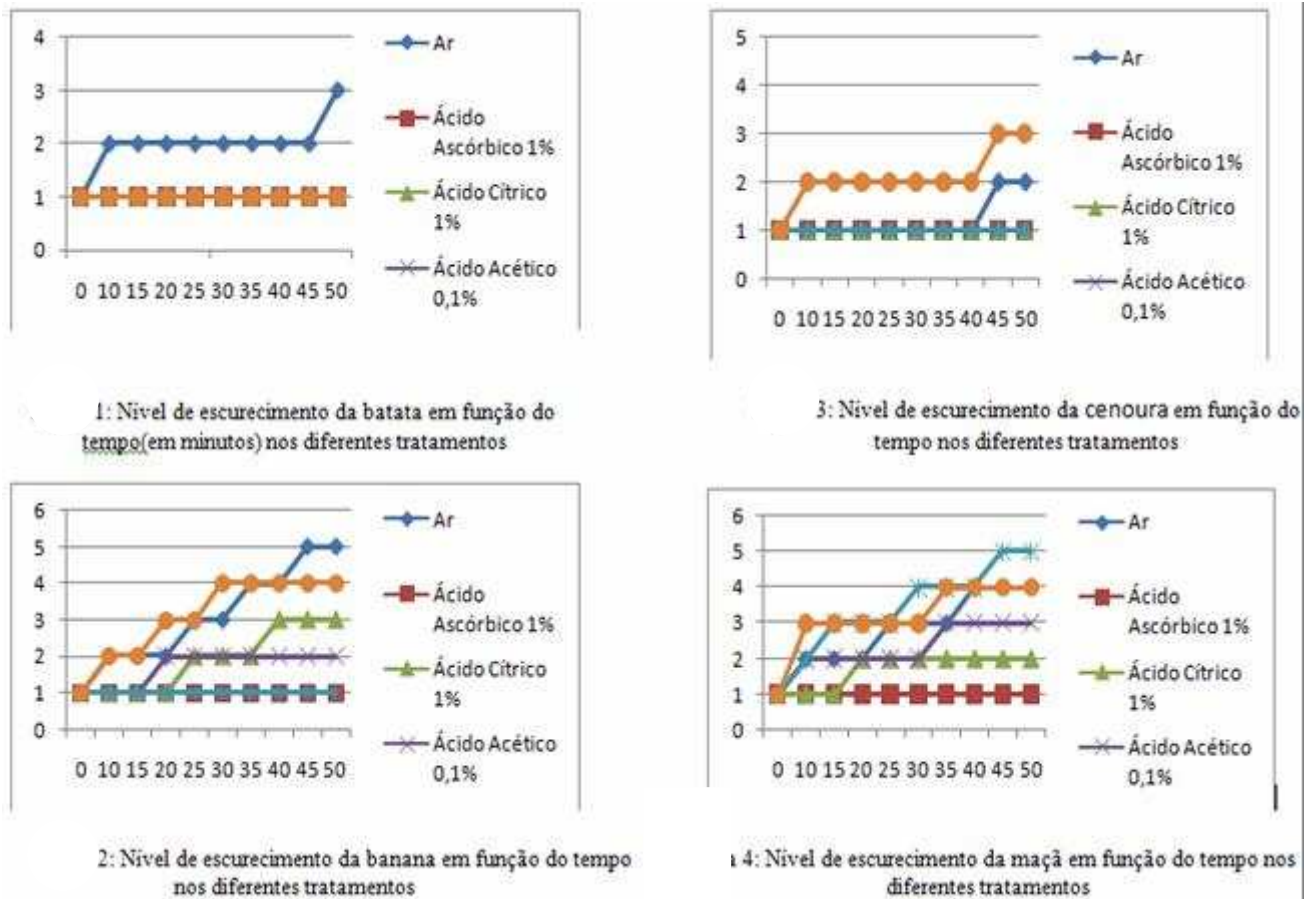


FIGURA 1 – Resultados do método de imersão em ácidos orgânicos em função do tempo

Fonte: Autores (2012).

Observando os resultados obtidos na Figura 1, nota-se que o ácido mais eficiente na inibição do escurecimento enzimático nas respectivas amostras foi o ácido ascórbico 1%, pois conseguiu manter constante a cor das frutas e hortaliças sem aparecimento de manchas. Este resultado se consolidou devido a acidificação do meio fazer com que o pH reduza em duas ou mais unidades abaixo do pH 6.

Resultados semelhantes foram obtidos por MELO & VILAS BOAS, (2006), que testaram a eficiência do ácido ascórbico associado a outros componentes antioxidantes em bananas minimamente processadas, obtendo resultados positivos. PINHEIRO *et al.*, (2004) constataram que o ácido ascórbico 1% associado com o ácido cítrico 2 % foi eficiente na contenção do escurecimento em carambolas minimamente tratadas. O mesmo resultado foi observado por MARTINS *et al.*, (2010), que testaram ácido ascórbico 2% para inibir o escurecimento enzimático em pêssegos, constatando que os frutos que passarem por este tratamento apresentaram melhor aparência, mantiveram a cor e menor atividade enzimática.

QUADRO 1 – Resultados do método de proteção contra o oxigênio através do uso do papel filme PVC em diferentes intervalos de tempo.

Tempo	Banana	Maçã	Batata	Cenoura
08h50min	1	1	1	1
09h00min	2	3	1	2
09h10min	3	3	1	2
09h20min	4	3	1	2
09h30min	4	3	1	2
09h40min	4	4	2	3
09h50min	5	4	1	3

Legenda:

1. = sem escurecimento (manchas);
2. = algumas manchas claras;
3. = metade coberto com manchas claras;
4. = totalmente coberto com manchas claras;
5. = totalmente coberto com manchas escuras;

Em relação ao método de remoção do oxigênio com uso de embalagem papel filme PVC, apenas a batata apresentou resultado satisfatório. Talvez essa situação tenha ocorrido porque as frutas não passaram por um tratamento anterior, já que esse tipo de embalagem é usado no armazenamento das frutas e hortaliças. Segundo DEL AGUILA *et al.*, (2006), o uso de filmes PVC no armazenamento e comercialização de frutas e hortaliças minimamente processadas tem como vantagem principal a capacidade de manter a qualidade do produto pela redução de água.

SANTOS DE JESUS *et al.*, (2008) constataram o aparecimento de escurecimento externo e interno no quiabo minimamente processado, tratado com substâncias antioxidante e embalado com filme PVC, segundo os autores, isso pode ter ocorrido devido a permeabilidade da embalagem de PVC ao oxigênio. Já MARTINS *et al.*, (2010) obtiveram um resultado diferente, ao analisar a influência de diferentes embalagens na manutenção da qualidade em relação a vida de prateleira do pêssego, afirmam ainda que os produtos armazenados em embalagem de PVC apresentaram uma aparência melhor e menor atividade de enzimas relacionadas ao escurecimento, tendo vida de prateleira de nove dias.

QUADRO 2: Resultados do método de inativação térmica da enzima (Branqueamento)

VEGETAIS	BRANQUEAMENTO	Fixação da cor
BANANA	++	--
BATATA	+	-
CENOURA	+	-
MAÇA	+++	---

Legenda:

- + = Não escureceu; ++ = Escureceu moderadamente; +++ = Escureceu intensamente;
 - = Boa; -- = Média; --- = Ruim;

O teste do branqueamento foi satisfatório para as hortaliças, contribuindo para a fixação da cor. Porém, para as frutas esse tratamento interferiu na textura, deixando as mesmas amolecidas, apresentando escurecimento parcial ou total. O que pode ter influenciado neste resultado foi a espessura das amostras, a temperatura elevada ou o tempo de exposição ao calor. No estudo realizado por FANTE *et al.*, (2011), onde foi analisado o escurecimento em alhos, o branqueamento em água quente nas temperaturas de 80 e 90 °C e em vapor a 100 °C nos tempos de 1, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos, provocou a diminuição da atividade enzimática da peroxidase e polifenoloxidase, porém teve modificações indesejáveis na textura do alho nos tempos maiores que quatro minutos, segundo os autores, isso ocorreu devido a espessura fina das rodela de alho, pois durante o aquecimento prolongado as células podem se separar completamente ocasionando uma perda da força textural.

No trabalho realizado por KRINGEL *et al.*, (2010), onde estudaram o efeito do branqueamento e dos métodos de congelamento na estrutura do milho em grão, o branqueamento foi realizado nos tempos de 1,5 e 3 minutos, concluindo que esse teste é indispensável para manutenção da cor do produto, inibindo o escurecimento durante a estocagem e congelamento, apesar de alterar a textura da célula vegetal.

CONCLUSÃO

Dentre os métodos usados para a inibição do escurecimento enzimático da maçã, banana, batata e cenoura, o mais eficiente foi o método químico, especificamente com o ácido ascórbico 1,0%, onde somente a banana desenvolveu manchas claras, em metade das amostras. Já para os físicos, o teste de proteção contra oxigênio com uso da embalagem de PVC não foi satisfatório, pois apenas a batata não desenvolveu nenhuma mancha, isto pode ter ocorrido devido as amostras não terem passado por um pré-tratamento, já que esse tipo de embalagem é usado no armazenamento de frutas e hortaliças minimamente processadas. O branqueamento foi eficiente para as hortaliças, onde protegeu contra o escurecimento e ajudou na fixação da cor, já para as frutas, foi desfavorável, pois além de apresentarem escurecimento intenso, a textura foi prejudicada. Este aspecto negativo em relação as frutas pode ter ocorrido devido a espessura das amostras, a faixa de temperatura inadequada ou o tempo de exposição ao calor. Para o bom desempenho do processo de branqueamento é necessário levar em consideração todos esses parâmetros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARDOSO, W. S., PINHEIRO, F. A., PATELLI, T., PEREZ, R., RAMOS, A. M. Determinação da concentração de sulfito para a manutenção da qualidade da cor em maçã desidratada. **Revista Analytica**, n.29, p.66, 2007. Disponível em <http://www.revistaanalytica.com.br/ed_antteriores/29/art05.pdf>, acesso em 15 nov. 2012.

COSTA, A.C.; **Estudo da conservação do pêssego (*Prunus persica* L.) minimamente processado**. Tese (Doutorado), Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, p.77, Pelotas, 2010.

DEL AGUILA, J. S. et al. Qualidade de rabanete minimamente processado e armazenado em embalagens com atmosfera modificada passiva e refrigeração. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 09, n. 01, p.19-24, 2006.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

FANTE, L. **Estudo da cinética de Branqueamento e de Secagem por ar quente e liofilização do alho (*Allium sativum* L.)**. Dissertação (Mestrado), Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.119, Porto Alegre, 2011.

KRINGEL, D. H., SCHIAVON, M. V., FREDA, S. A., DELLINHAUSEN, C. B., MENDONÇA, C. R. B. **Efeito do pré-tratamento e do método de congelamento na estrutura do milho em grãos**. XII ENPOS, II Mostra Científica, 2010. Disponível em <http://www.ufpel.edu.br/cic/2010/cd/pdf/CA/CA_00107.pdf>, acesso em 15 nov. 2012.

MARTINS, R.N. **Processamento mínimo de pêssegos “Aurora-1”: estágio de maturação, embalagens, temperaturas de conservação e aditivos naturais**. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, p.134, Jaboticabal, 2010.

MELO, A. A. M., VILAS BOAS, E. V. B. Inibição do escurecimento enzimático de banana maçã minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 01, p. 110-115, Campinas, 2006.

OLIVEIRA, T. M., SOARES, N. F. F., PAULA, C. D., VIANA, G. A. Uso da embalagem ativa na inibição do escurecimento enzimático de maçãs. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.29, n.1, p.117-128, 2008.

ORSO, E. **Estudo dos fatores que influenciam a eficiência do branqueamento em couve-flor**. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Rio Grande do Sul – IFRS, p.33, Bento Gonçalves, 2011.

PINHEIRO, A. C., VILAS BOAS, E. V. B., TEIXEIRA, M., MESQUITA, C. Qualidade de abacate minimamente processado. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 3., Viçosa, 2004, **Resumos**. Viçosa: UFV, p. 148, 2004.

SANTOS DE JESUS, M. M., GUITIERREZ CARNELOSSI, M. A., SANTOS, S. F., NARAIN, N., CASTRO, A. A. Inibição do escurecimento enzimático de quiabo minimamente processado. Universidade Federal do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v.39, n.4, p.534-530, 2008.

SANTOS, I.R.C. **Escurecimento enzimático em frutos: polifenoloxidase de Atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.)**. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Departamento de Alimentos e Nutrição, p.119, Araraquara, 2009.

SILVA, M. V., ROSA, C. I. L. F., VILAS BOAS, E. V. B. Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças. **B.CEPPA**, Curitiba, v.27, n.1, p.83-96, 2009.

