

ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO EM VEGETAIS MINIMAMENTE PROCESSADOS E SEUS MÉTODOS DE CONTROLE

Paula Lidiane de Oliveira Fernandes

Mestranda do curso de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido UFERSA
E-mail: paula_esam@hotmail.com

Laiane Torres Silva

Mestranda do curso de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido UFERSA
E-mail: laianetorres@ig.com.br

Larissa de Oliveira Fontes

Graduanda do curso de Agronomia, Bolsista de Pibic - UFERSA, Mossoró/RN E-mail: larissafontesjp@hotmail.com

Ana Paula Medeiros dos Santos Rodrigues

Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido-UFERSA, Mossoró/RN
E-mail: anapaulamsr@hotmail.com

Rafaella Martins de Araújo Ferreira

Mestranda do curso de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido UFERSA
E-mail: rafaellamarafe@hotmail.com

RESUMO: Os produtos minimamente processados são mais suscetíveis aos processos deteriorativos quando comparados aos não processados (inteiros), sendo um dos principais problemas o escurecimento causado pela ação de enzimas oxidativas. São motivos de intensa pesquisa, e devido às alterações que provocam, têm implicações tanto nutricionais, tecnológicas e econômicas. Foram tratados nesta revisão a ação das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD), bem como os métodos de controle aplicáveis ao processamento mínimo de vegetais. Os estudos evidenciaram que a PPO e a POD afetam negativamente a cor dos produtos minimamente processados, e também podem reduzir o seu valor nutricional. A forma mais eficiente de controlar esse problema é a combinação entre métodos físicos e químicos por evitar o uso de tratamentos individuais mais severos, que poderiam prejudicar a aparência, a textura dos vegetais, e à saúde humana. Avanços tecnológicos na conservação pós-colheita e a crescente procura por vegetais minimamente processados são determinantes para estimular a pesquisa aplicada para o controle do escurecimento enzimático, podendo resultar em menores perdas nesse segmento de mercado.

Palavras-chave: Processamento mínimo, Escurecimento enzimático, Métodos combinados

ENZIMÁTICA PARDEAMIENTO EN VEGETALES PROCESADOS Y SUS MÉTODOS DE CONTROL

RESUMEN: Los productos mínimamente procesados son más susceptibles al proceso de deterioro en comparación con primas (completas), uno de los principales problemas causados por la acción de oscurecimiento de las enzimas oxidativas. Son causas de intensa investigación, y debido a los cambios que provocan, tienen implicaciones tanto para nutricionales, tecnológicos y económicos. Fueron tratados en esta revisión la acción de las enzimas polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POD) y métodos de control aplicables al tratamiento de un mínimo de vegetales. Los estudios demostraron que la PPO y POD afectan negativamente al color de los productos mínimamente procesados, y también puede reducir su valor nutricional. La manera más eficiente para controlar este problema es la combinación de métodos físicos y químicos para evitar el uso de tratamientos individuales más severa, que podría afectar negativamente a la apariencia, la textura de las plantas y la salud humana. Los avances tecnológicos en la post-cosecha de la conservación y la creciente demanda de vegetales mínimamente procesados son esenciales para estimular la investigación aplicada para el control del pardeamiento enzimático, que pueden ayudar a reducir las pérdidas en ese segmento del mercado.

Palavras clave: procesamiento mínimo, pardeamiento enzimático, métodos combinados

ENZYMATIC BROWNING IN MINIMALLY PROCESSED VEGETABLES AND THEIR METHODS OF CONTROL

Abstract: The minimally processed products are more susceptible to the deteriorating process when compared to raw (whole), one of the main problems caused by the darkening action of oxidative enzymes. Are causes of intense research, and due to the changes they cause, have implications for both nutritional, technological and economic. Were treated in this review the action of enzymes polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) and control methods applicable to the minimal processing of vegetables. The studies showed that the PPO and POD negatively affect the color of minimally processed products, and also can reduce their nutritional value. The most efficient way to control this problem is the combination of physical and chemical methods to avoid the use of individual treatments more severe, which could adversely affect the appearance, texture of the plants, and human health. Technological advances in post-harvest conservation and increasing demand for minimally processed vegetables are essential to stimulate applied research for the control of enzymatic browning, which can result in lower losses in that market segment.

Keywords: Minimal processing, browning enzymatic methods combined

INTRODUÇÃO

A definição de produto minimamente processado é “qualquer fruto ou hortaliça, ou combinação destes, que tenha sido fisicamente alterada, mas permanecendo no seu estado *in natura* (International Fresh-cut Produce Association – IFPA, 1999). Assim, o processamento mínimo é a manipulação, o preparo, embalagem e a distribuição de produtos agrícolas, através de procedimentos como seleção, limpeza, lavagem, descascamento e corte, que não afetem suas características organolépticas, agregando valor aos mesmos.

Por tratar-se de um produto injuriado, principalmente pelo corte, a vida de prateleira é reduzida, em relação ao produto não processado (CANTWELL, 1992), apresentando comportamento fisiológico de tecidos vegetais submetidos a condições de estresse (BRECHT, 1995). As respostas conseqüentes das injúrias mecânicas provocadas pelo processamento mínimo podem acelerar a perda de qualidade, reduzir a vida de prateleira e modificar os atributos sensoriais (WILEY, 1994). As principais alterações são a perda de integridade celular na superfície cortada, a suberização da parede celular e a degradação microbiológica dos tecidos, além de poder ocasionar a descompartimentação de enzimas e seus substratos, aumento da taxa respiratória, da evolução de etileno, de compostos fenólicos solúveis e totais e da atividade das enzimas fenilalanina amônio-liase, peroxidases, catalases e polifenol oxidases (Priepke et al., 1976; Rolle e Chism, 1987; Avena-Bustillos et al., 1993; Kim et al., 1994; Nicoli et al., 1994; Brecht, 1995 e Ahvenainen, 1996).

O escurecimento enzimático ocorre devido à presença da enzima polifenoloxidase (PPO), um termo genérico utilizado para designar um grupo de enzimas que catalisam a oxidação de compostos fenólicos, produzindo pigmentos escuros em cortes ou superfícies danificadas de frutas e hortaliças (SIMÕES, 2004). A peroxidase (POD) tem um aumento em sua solubilidade durante o período de maturação, conseqüentemente um aumento na atividade desta enzima no pós-climatério. O controle da atividade da peroxidase e polifenoloxidase é de grande importância para a tecnologia de alimentos, uma vez que estas são responsáveis pelo escurecimento em frutas e vegetais e seus produtos processados. São vários os métodos de controle e eles podem ser aplicados de forma combinada,

ocasionando assim um melhor resultado. A aplicação de temperaturas baixas apenas reduz a atividade enzimática, porém não provoca inativação. Alguns químicos já testados com eficácia comprovada na inibição da PPO podem ser prejudiciais ao produto e ao consumidor, trazendo riscos de toxicologia e efeitos sensoriais ao produto (GARCIA; BARRETT, 2002; MARSHALL; KIM; WEI, 2000).

Existe uma grande preocupação em obter novas tecnologias para minimizar o escurecimento dos vegetais, aliados ao uso de técnicas que diminuam a aplicação de métodos químicos, já que no Brasil não há uma legislação para o uso destes produtos; e há uma procura cada vez maior de hábitos e alimentos mais saudáveis. O uso de antioxidante geralmente combinado com embalagens tem se mostrado bastante eficiente no controle do escurecimento, como por exemplo a vitamina C, trazendo também o benefício de ser um grande agente nutricional. Esta revisão tem como objetivo apresentar um estudo sobre escurecimento enzimático, mostrando a sua importância com relação aos produtos vegetais minimamente processados, os seus mecanismos de ocorrência, métodos de controle, e a necessidade de mais estudos por novas alternativas.

REVISÃO DE LITERATURA

O escurecimento enzimático não ocorre em células intactas, pois os compostos fenólicos que se encontram nos vacúolos celulares ficam separados da PPO que está presente nos plastos. Quando o tecido é danificado pelo corte, a enzima entra em contato com seu substrato e a formação de pigmentos escuros ocorre (MARSHALL; KIM; WEI, 2000; MARTINEZ; WHITAKER, 1995), favorecido pela exposição ao oxigênio. A PPO catalisa inicialmente a hidroxilação de monofenóis para *o*-difenois e depois a dehidrogenação de *o*-difenois para *o*-quinonas (CRUMIÈRE, 2000). As *o*-quinonas são altamente reativas e rapidamente oxidam formando o pigmento melanina. Além de descoloração, podem aparecer sabores indesejáveis e diminuição de valor nutricional (GARCIA; BARRET, 2002; ARAÚJO, 2001; MARSHALL; KIM; WEI, 2000).

Sempre que ocorre um dano no fruto, corte ou esmagamento, rompem-se células e promove-se o contato entre as enzimas e os substratos. Em pêra, as PPOs

rapidamente catalisam a oxidação de compostos fenólicos, ficando mais visível na face exposta ao ar. Este problema tem de ser minimizado desde o campo, nas operações de colheita e transporte, e na própria indústria deve ser controlado, pois economicamente não se podem registrar perdas (Kim *et al.*, 2000). Do mesmo modo que as polifenoloxidases, as peroxidases (POD) têm atividade típica na reação de oxidação de compostos fenólicos em presença de peróxido de hidrogênio. Também são obtidas quinonas como produto, as quais são instáveis e após a oxidação não enzimática na presença de O₂ polimerizam-se formando as melaninas (CHITARRA, 2002).

Métodos físicos de controle do escurecimento envolvem redução de temperatura ou inativação térmica da enzima, proteção do produto contra oxigênio, desidratação, uso de atmosfera modificada, embalagens ativas e outros. 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 (MARTINEZ; WHITAKER, 1995). A aplicação de temperaturas baixas apenas reduz a atividade enzimática, porém não provoca inativação. A refrigeração constitui o meio mais tradicional para diminuir tanto a atividade da PPO quanto da POD. As baixas temperaturas (0-4°C) estão longe do ponto ótimo para essas enzimas, dificultando o acoplamento enzima-substrato pela diminuição da energia cinética das moléculas (LEE *et al.*, 1995). Possíveis alterações na PPO ou POD (mudanças na atividade, solubilização, etc.) por meio da refrigeração dependem de fatores como o armazenamento do fruto inteiro ou fracionado, estado de amadurecimento e umidade relativa (INGHAM, PARKER e WALDRON, 1998).

Como não se aplica tratamento térmico em vegetais minimamente processados não é possível inativar a PPO e a POD por desnaturação. Mas o estudo da atividade dessas enzimas em tomate, cenoura, berinjela (HEMEDA e KLEIN, 1991), brócolis (BARRETT *et al.*, 2000), pimenta (RAMESH *et al.*, 2002), e alface (MARTIN-DIANNA *et al.*, 2005b) demonstrou que a PPO não apresenta termorresistência, enquanto a POD sim. Além disso, o tratamento hidrotérmico suave pode regular a síntese de compostos fenólicos ou mesmo das enzimas no período de armazenamento.

Na tecnologia de atmosfera modificada (AM) são usados filmes poliméricos que formam embalagens com permeabilidade diferencial para O₂, CO₂, C₂H₄, e vapor de água para aumentar a vida útil de vários produtos vegetais (CHITARRA e PRADO, 2002). O efeito da AM pode ser potencializado pela incorporação de atmosfera inerte com vácuo parcial ou com concentração de O₂ reduzida (NICOLAS *et al.*, 1994). PRADO *et al.* (2003) observaram que a injeção de gases (2% O₂ + 10% CO₂ e 5% O₂ + 5% CO₂) promoveu injúria no tecido de abacaxi minimamente processado, estimulando a atividade da polifenoloxidase. Os mesmos autores indicaram a

atmosfera modificada passiva como melhor tratamento para esse tipo de fruta.

No entanto, o uso de atmosfera modificada ativa (10% CO₂, 2% O₂, 88% N₂) foi mais efetivo que a atmosfera modificada passiva na conservação de batatas minimamente processadas tratadas com agentes oxidantes, mostrando índice de escurecimento 24% menor (PINELI *et al.*, 2005). Hintlian e Hotchkiss (1986) esclareceram que a refrigeração não deve ser suprimida no armazenamento com atmosfera modificada, devido à necessidade do controle microbiológico.

Os filmes comestíveis constituem bom complemento ao efeito benéfico do emprego da atmosfera modificada. O grau de escurecimento enzimático foi reduzido em fatias de maçãs revestidas com filme composto por proteínas do leite e carboximetilcelulose (LE TIEN *et al.*, 2001). O uso de inibidores de escurecimento enzimático em alimentos é restrito pela toxicidade que podem causar dependendo da concentração empregada, e também pelo potencial efeito negativo na textura, aroma, gosto e custos. Os inibidores químicos de escurecimento podem ser classificados de acordo com seu modo de ação primária como: agentes antioxidantes, acidulantes, quelantes ou complexantes ou inibidores enzimáticos, atuando diretamente nas enzimas, nos substratos ou ainda nos produtos de reação (MARSHAL, KIM e WEI, 2000). Ainda não há legislação específica no Brasil para os produtos minimamente processados estabelecendo os tipos de inibidores de escurecimento permitidos e os limites de aplicação.

Conforme MARSHAL, KIM e WEI (2000), os agentes redutores atuam na prevenção do escurecimento enzimático reduzindo as o-quinonas a difenóis (sem coloração) ou reagindo irreversivelmente com elas formando produtos estáveis e sem cor. Os sulfitos e seus derivados devem agir diretamente nas enzimas pela diminuição do número de pontes dissulfeto no centro catalítico (SAYAVEDRA-SOTO e MONTGOMERY, 1988; WALKER e FERRAR, 1998), ou nos compostos de reação, formando sulfonatos sem coloração, ou reduzindo-os aos fenóis precursores (WONG, 1995; ARAÚJO, 1999). Nesses últimos casos, a prevenção perante ao escurecimento é apenas temporária, uma vez que há o consumo do agente químico. O uso indiscriminado de sulfito em vegetais já foi relatado nos Estados Unidos, e relacionado com reações alérgicas e asma (SAPERS, 1993).

O ácido ascórbico, ou vitamina C, além de atribuir valor nutricional aos alimentos, também apresenta ação redutora. Juntamente com seus sais neutros compõe um dos principais grupos de antioxidantes empregados em produtos vegetais com o intuito de prevenir o escurecimento e outras reações oxidativas de duas maneiras: (1) agindo diretamente na enzima, complexando o cobre do grupo prostético da PPO, causando sua inibição; (2) reduzindo as quinonas a sua forma anterior de fenóis, impedindo a formação dos pigmentos escuros (SAPERS e MILLER, 1998). A redução das quinonas aos

seus precursores fenólicos leva à oxidação irreversível do ácido ascórbico (que é preferencialmente oxidado em relação aos compostos fenólicos) e à formação de ácido dehidro ascórbico sem atividade inibitória (MARSHALL, KIM e WEI, 2000). Agentes acidulantes são geralmente utilizados para manter o pH do meio abaixo do ótimo para a ação catalítica das enzimas em alimentos. Exemplos de acidulantes que podem inibir o escurecimento enzimático são os ácidos cítrico, málico e fosfórico (ZEMEL et al., 1990).

O ácido cítrico, um dos acidulantes mais comumente usados na indústria de alimentos, pode agir como redutor do pH ou como quelante do cobre da enzima PPO. Paschoalino et al. (1993) combinaram os ácidos cítrico e ascórbico, ambos a 0,3%, e embalagem com baixa permeabilidade, e obtiveram batatas sem escurecimento e com boa textura por 17 dias. A PPO tem um átomo de cobre no seu centro ativo e a POD um de ferro. A remoção desses metais por agentes quelantes, a exemplo dos ácidos sórbico, etileno diamino tetraacético (EDTA) e policarboxílicos (como o málico e o tartárico) causam a inativação dessas enzimas. Alguns desses também atuam como redutores de pH ou antioxidantes dos produtos da reação de escurecimento, como o ácido ascórbico e o cítrico (MARSHALL, KIM e WEI, 2000).

Conforme Wong (1995), o EDTA não é muito eficiente no controle do escurecimento enzimático, sendo comumente combinado com outro agente redutor e acidulante (como o ácido ascórbico e o ácido cítrico, respectivamente). Para Melo e Vilas Boas (2006), o EDTA a 1% foi o tratamento mais efetivo em banana 'Maçã' minimamente processada contra a atividade da PPO, mas não contra a POD. A perda da integridade da parede celular representa o início das reações de escurecimento enzimático. O corte, a queda, a ação de pectinases, hemicelulases e celulase são fatores que levam à perda da integridade da parede celular dos vegetais, e por consequência, geralmente ao início das reações de escurecimento enzimático. Soluções de sais de cálcio ajudam a manter a parede celular em bom estado: os íons de cálcio ligam-se às cadeias de pectina, formando pontes entre elas, aumentando sua força e formando pectato de cálcio (POOVAIAH, 1986; RENSBURG e ENGELBRECHT, 1986).

Bons resultados foram observados pela combinação de cloreto de cálcio com eritorbato de sódio e 4-hexilresorcinol em fatias de pêras minimamente processadas (SAPERS e MILLER, 1998). Tratamento hidrotérmico com cloreto de cálcio 1,5% a 50°C/1min em alface minimamente processada inibiu o escurecimento enzimático e reduziu a respiração do produto (MARTINDIANA et al., 2005a).

Fagundes e Ayub (2005) não constataram inibição do escurecimento enzimático em caquis inteiros da cultivar Fuyu tratados com cloreto de cálcio 2% e espalhante adesivo 0,05%, devido à baixa permeabilidade da solução do sal no tecido vegetal. O uso da irradiação em alimentos baseia-se na sua exposição a uma fonte de radiação

ionizante suficiente para criar cargas positivas e negativas, mensurada pela unidade gray ou múltiplos (kilograys, kGy), por meio do uso de raios gama produzidos geralmente por radioisótopos de cobalto 60 ou cério-137. Dependendo da dose de energia utilizada, os alimentos podem ser pasteurizados e até esterilizados porque o processo elimina microrganismos, exceto alguns vírus (OLSON, 1998).

Conforme Potter e Hotchkiss (1998), vegetais irradiados podem sofrer alterações quanto à textura e coloração. Também pode haver a formação de compostos radiolíticos, especialmente naqueles com alto conteúdo aquoso a partir da radiólise da água. A irradiação em doses baixas (1 kGy ou menor) foi apresentada como técnica que auxilia o processamento mínimo com a finalidade de prolongar a vida útil de algumas frutas e hortaliças (LACERDA, 2000). De acordo com Beaulieu, D'aprano e Lacroix (2002), a radiação gama pode afetar diretamente o escurecimento enzimático alterando a conformação estrutural protéica das enzimas, ou modificando o seu centro ativo, especificamente pela redução do íon metálico. O efeito indireto ocorre quando doses maiores de radiação alteram a permeabilidade das membranas celulares, havendo conseqüentemente maior entrada de oxigênio molecular no citoplasma e descompartimentação dos compostos fenólicos, provocando efeito sinérgico da oxidação desses por via enzimática e não enzimática.

Para cada vegetal existe a dose ótima de radiação, determinada principalmente pelo efeito sobre o escurecimento enzimático diante de mudanças de textura ou perda de massa fresca (LACERDA, 2000; LEITE, SILVA e SANTOS, 2003). Vilas Boas (2002a) comentou que deve haver maior desenvolvimento da tecnologia e redução de custos para que a irradiação de alimentos seja utilizada comercialmente. Ornellas et al. (2006) apontaram também que os consumidores confundem alimentos irradiados com alimentos radioativos, provocando baixa aceitação dos produtos.

A seqüência dos genes da PPO dos vegetais é bastante similar. Uma das possibilidades para diminuir a atividade da PPO e da POD, e por consequência as reações de escurecimento resultantes, é caracterizar e inativar os genes que codificam a enzima (MARSHAL, KIM e WEI, 2000).

Os genes da PPO são codificados no núcleo celular e transcritos no citoplasma. Assim, uma vez formada a pro-PPO, ela é transportada para o cloroplasto onde sofre clivagem proteolítica, gerando a forma ativa da PPO. A biologia molecular, por meio da manipulação genética, pode ser utilizada para modificar o processo de formação da PPO ativa: os RNA mensageiros tornam-se complementares, a sua tradução não ocorre e nem a formação da proteína ativa. O resultado é a produção de cultivares de frutas e de hortaliças menos propensos ao escurecimento (VAUGHN, LAX e DULE, 1988; MARTINEZ e WHITAKER, 1995).

Bachem et al. (1994) mostraram que a inibição antisense do gene de expressão da PPO fez com que batatas transgênicas não escurecessem após o corte. Esse tipo de aplicação abre a possibilidade de prevenir o escurecimento enzimático em vários vegetais, sem o uso de tratamentos como o aquecimento ou a aplicação de antioxidantes. Com o mesmo intuito, Murata et al. (2001) observaram que maçãs transgênicas com gene antisense de PPO apresentaram metade da intensidade de escurecimento em relação às amostras não transgênicas. Uma linha de pesquisa bastante promissora é a qual procura adicionar, agentes anti-escurecimento tais como agentes redutores (ácido ascórbico) e/ou acidificantes (ácido cítrico), de modo a reverter o processo, uma vez que o agente antioxidante se liga ao oxigênio livre enquanto que o acidificante inibe a atividade enzimática por redução do pH.

O ácido ascórbico é um agente nutricional de elevada solubilidade em água, o que permite a sua utilização em gêneros alimentícios não lipídicos (LIDON e SILVESTRE, 2007). A utilização destes aditivos não é importante apenas para o momento de produção das polpas, em que ocorre uma ruptura celular com o conseqüente contacto entre enzima/substrato. É também importante para a manutenção da qualidade sensorial do produto no armazenamento, ao longo do seu tempo de prateleira até ao seu consumo. Desta forma, consegue-se uma vantagem tecnológica ao mesmo tempo que se repõem perdas de vitamina C que decorrem ao longo do processo. A estabilização química revela-se ser imprescindível para a obtenção de produtos com certas características, nomeadamente polpas de pêra não escurecidas. Porém, tem de haver um processo físico associado que permita a conservação do alimento, tal como o recurso a temperaturas reduzidas.

Henriques (2009) desenvolveu uma polpa de base de pêra Rocha com um incremento da componente bioactiva pela adição de amoras e farelo de trigo, e a incorporação de limão e/ou ananás; testando assim a influência do ácido ascórbico e do ácido cítrico na prevenção do escurecimento. Conseguindo assim, um enriquecimento da polpa com antioxidantes e fibra dietética, sendo o produto final bem aceite por parte dos elementos do painel. Estas etapas concretizadas permitem concluir que este tipo de produto, além de ser cada vez mais procurado pelo consumidor, tem potencial para vingar no mercado das polpas de fruta, devido aos resultados sensoriais e físico-químicos finais obtidos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O escurecimento enzimático, promovido pelas polifenoloxidases e peroxidases, afeta negativamente as frutas e hortaliças minimamente processadas, tanto porque pode levar a alterações negativas no valor nutricional, como também por causar mudança indesejável de cor. Métodos físicos e químicos são combinados para o controle do escurecimento enzimático, compondo a

melhor indicação para o processamento mínimo, pois evitam o uso de tratamentos individuais mais severos que poderiam prejudicar outros atributos sensoriais dos vegetais.

Na pesquisa do escurecimento enzimático em frutas e hortaliças minimamente processadas deve-se considerar a fisiologia vegetal como um todo, já que outras enzimas que alteram a permeabilidade da membrana celular ao oxigênio, por exemplo, podem aumentar o potencial de escurecimento enzimático.

Os avanços tecnológicos na área de conservação pós-colheita, como o uso da irradiação ou do melhoramento genético, e o aumento da procura por frutas e hortaliças minimamente processadas são importantes fatores para que se invista em pesquisa aplicada na redução do escurecimento enzimático nesses produtos, haja vista a necessidade de se reduzirem as perdas decorrentes desse problema nesse segmento de mercado.

No entanto há também uma grande preocupação com os métodos que podem causar algum dano à saúde humana, visto que é cada vez maior a procura por produtos cada vez mais naturais.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1999. p. 319-329.
- ARAÚJO, J. M. A. *Química de alimentos: teoria e prática*. 2.ed. Viçosa: Editora da UFV, 2001.
- AHVENAINEN, R. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends Food Sci. Tech.*, 7:179-187. 1996.
- AVENA-BUSTILLOS, R.J., CISNEROS-ZAVALLAS, L.A., KROCHTA, J.M., SALTVEIT M.E. Optimization of edible coatings on minimally processed carrots using response surface methodology. *Trans. ASAE*, 36:801-805. 1993.
- BACHEM, C.; SPECKMANN, G.; VANDERLINDE, P.; VERHEGGEN, F.; HUNT, M.; STEFFENS, J.; ZABEAU, M. Antisense expression of polyphenol oxidase genes inhibits enzymatic browning in potato tubers. *Bio/ Technology*, v. 12, p. 1101-1105, 1994.
- BARRETT, D. M.; GARCIA, E. L.; RUSSELL, G. F.; RAMIREZ, E.; SHIRAZI, A. Blanch time and cultivar effects on quality of frozen and stored corn and broccoli. *J. Food Sci.*, v. 6, n. 3, p. 534-540, 2000.
- BEAULIEU, M.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. Effect of dose rate of gamma irradiation on biochemical quality and browning of mushrooms *Agaricus bisporus*. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 63, n. 3-6, p. 311-315, Mar. 2002.

- BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30:18-22. 1995.
- CANTWELL, M., Postharvest handling systems: Minimally processed fruits and vegetables. In: KADER, A.A. (Ed). *Postharvest technology of horticultural crops*. 2ed University of California, Division of Horticultural and Natural Resources, Davis, Publ, p. 273-281. 1992.
- CHITARRA, A. B.; PRADO, M. E. T. **Utilização de atmosfera modificada e controlada em frutos e hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. p. 13-15, 23-25, 40-42.
- CILLIERS, J. J. L.; SINGLETON, V. L. Caffeic acid autooxidation and the effects of thiols. *J. Agric. Food Chem.*, v. 38, p. 1789-1796, 1990.
- CRUMIÈRE, F. *Inhibition of enzymatic browning in food products using bio-ingredients*. 2000. Thesis (Master of Science) - Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University, Montreal.
- EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 273, 274.
- FAGUNDES, A. F.; AYUB, R. A. Caracterização físico-química de caquis cv. Fuyu submetidos à aplicação de agentes inibidores de escurecimento e armazenados a 0°C. *Acta Sci. Agron.*, v. 27, n. 3, p. 403-408, jul.-set. 2005.
- GARCIA, E.; BARRETT, D. M. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. In: LAMIKANRA, O. (Ed.). *Fresh cut fruits and vegetables: Science, Technology and Market*. USA: CRC Press, 2002. p.268-297.
- HEMEDA, I. H. M.; KLEIN, B. P. Inactivation and regeneration of peroxidase activity in vegetable extracts treated with antioxidantes. *J. Food Sci.*, v. 56, n. 1, p. 68-71, 1991.
- HENRIQUES, C.C.B. Desenvolvimento de polpa de pêra Rocha: Estabilização química e estudo da componente bioactiva . 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar). Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.
- HINTLIAN, C. B.; HOTCHKISS, J. H. The safety of modified atmosphere packaging: a review. *Food Technol.*, v. 40, p. 70-76, 1986.
- IFPA. *Fresh-cut produce handling guidelines*. 3ed., Produce Marketing Association, Newark, 1999. 39p.
- INGHAM, L. M.; PARKER, M. L.; WALDRON, K. W. Peroxidase: changes insoluble and bound forms during maturation and ripening of apples. *Physiol. Plant.*, v. 102, p. 93-100, 1998.
- KIM, D.M., SMITH, N.L., LEE, Y.C. Effect of heat treatment on firmness of apples and apple slices. *J. Food Proc.*, 18:1-8. 1994.
- LACERDA, S. A. **Radiação gama na conservação de pepinos ao natural e pré-processados, armazenados sob refrigeração**. Botucatu, 2000. 84 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia -Horticultura), Universidade Estadual Paulista.
- LEE, L.; ARUL, A.; LENCKI, R.; CASTAIGNE, F. A review on modified atmosphere packaging and preservation of fresh fruits and vegetables: physiological basis and practical aspects. *Packag. Tecnol. Sci.*, v. 8, p. 315-331, 1995.
- LEITE, V. C.; SILVA, R. M. S.; SANTOS, A. S. Preservação de batatas e tomates por irradiação. In: ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL (SBQSUL), 11., nov., 2003, Pelotas. *Anais...* Santa Maria: Pallotti, 2003. p.59.
- LE TIEN, C.; VACHON, C.; MATEESCU, M. A.; LACROIX, M. Milk protein coatings prevent oxidative browning of apples and potatoes. *J. Food Sci.*, v. 66, n. 4, p. 512-516, 2001.
- LIDON, F., SILVESTRE, M. M. (2007). *Industrias alimentares – aditivos e tecnologia*. Escolar Editora, Portugal, pp. 49 -9.
- MARTIN-DIANA, A. B.; RICO, D.; BARRY-RYAN, C.; MULCAHY, J.; FRIAS, J.; HENEHAN, G. T. M. Calcium lactate washing treatments for salad-cut iceberb lettuce: effect of temperature and concentration on quality retention parameters. *Food Res. Int.*, v. 38, n. 7, p. 729-740, 2005a.
- MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends Food Sci. Technol.*, v. 6, p. 195-200, 1995.
- MARSHALL, M. R.; KIM, J.; WEI, C. **Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods**. Washington: FAO, 2000. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/ags/agsi/enzymefinal/enzymatic%20browning.htm>>. Acesso em: 5 jun. 2006.
- MELO, A. A. M.; VILAS BOAS, E. V. B. Inibição do escurecimento enzimático de banana maçã minimamente processada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 26, n. 1, p. 110-115, jan./mar. 2006.
- MURATA, M.; NISHIMURA, M.; MURAI, N.; HARUTA, M.; HOMMA, S.; ITOH, Y. A transgenic apple callus showing reduced polyphenol oxidase activity

- and lower browning potential. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 65, n. 2, p. 383-388, 2001.
- NICOLAS, J. J.; RICHARD-FORGET, F. C.; GOUPY, P. M.; AMIOT, M. J.; AUBERT, S. Y. Enzymatic browning reaction in apple and apple products. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 34, p. 109-157, 1994.
- NICOLI, M.C., ANESE, M., SEVERINI, C. Combined effects in preventing enzymatic browning reactions in minimally processed fruit. **J. Food Quality**, 17:221-229. 1994.
- OLSON, D. G. Irradiation of food. **Food Technol.**, v. 52, n. 1, p. 56-62, jan. 1998.
- ORNELLAS, C. B. D.; GONÇALVES, M. P. J.; SILVA, P. R.; MARTINS, R. T. Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 211-213, jan./mar. 2006.
- PASCHOALINO, J. E.; NISIDA, A. L. A. C.; GARCIA, E. E. C.; TOCCHINI, R. P. Prevenção do escurecimento em batatas frescas descascadas e fatiadas. **Colet. Inst. Tecnol. Alimentos**, v. 2, n. 23, p. 189-197, jul./ dez. 1993.
- PINELI, L. L. O.; MORETTI, C. L.; ALMEIDA, G. C.; NASCIMENTO, B. G.; ONUKI, A. C. A. Associação de atmosfera modificada e antioxidantes reduz o escurecimento de batatas "Ágata" minimamente processadas. **Hort. Bras.**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 993-997, out./dez. 2005.
- POOVAIAH, B. W. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. **Food Technol.**, v. 40, p. 86-89, 1986.
- POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Food science**. 5th ed. Aspen: Gaithersburg, 1998. p. 249, 250.
- PRADO, M.E.T.; CHITARRA, A.B.; BONNAS, D.S.; PINHEIRO, A.C.M.; MATTOS L.M. Armazenamento de abacaxi 'Smooth Cayenne' minimamente processado sob refrigeração e atmosfera modificada. **Rev. Bras. de Frut.**, v. 25, n. 1, p. 67-70, 2003.
- PRIEPKE, P.E., WEI, L.S., NELSON, A.I. Refrigerated storage of prepackaged salad vegetables. **J. Food Sci.**, 41:379-382. 1976.
- RAMESH, M. N.; WOLF, W.; TEVINI, D.; BOGNÁR, A. Microwave blanching of vegetables. **J. Food Sci.**, v. 67, n. 1, p. 390-398, 2002.
- RENSBURG, E. van; ENGELBRECHT, A. H. P. Effect of calcium salts on susceptibility to browning of avocado fruit. **J. Food Sci.**, v. 51, n. 4, p. 1067-1068, 1986.
- ROLLE, R., CHISM, G.W., Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **J. Food Qual.**, 43:274-276. 1987.
- SAPERS, G. M. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants and other means. **Food Tech.**, v. 47, p. 75-84, 1993.
- SAPERS, G. M.; MILLER, R. L. Browning inhibition in fresh-cut pears. **J. Food Sci.**, v. 63, n. 2, p. 342-346, 1998.
- SAYAVEDRA-SOTO, L. A.; MONTGOMERY, M. W. Response contour diagrams to describe effects of moisture, storage, temperature, and sulfur dioxide on color of dried apples. **J. Food Sci.**, v. 53, n. 2, p. 643- 644, 1988.
- VAUGHN, K. C.; LAX, A. R.; DUKE, S. O. Polyphenol oxidase: the chloroplast oxidase with no established function. **Physiol. Plant.**, v. 72, p. 659-665, 1988.
- VILAS BOAS, E. V. B. **Perdas pós-colheita**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002a. p. 53.
- WALKER, J. R. L.; FERRAR, P. H. Diphenol oxidases, enzyme-catalysed browning and plant disease resistance. **Biotech. Gen. Eng. Rev.**, v. 15, p. 468, 1998.
- WONG, D. W. S. **Química de los alimentos: mecanismos e teoria**. Zaragoza: Acríbia, 1995. p. 233-236, 365, 372.
- ZEMEL G. P.; SIMS, C. A.; MARSHALL, M. R.; BALABAN, M. Low pH inactivation of polyphenoloxidase in apple juice. **J. Food Sci.**, v. 55, p. 562-563, 1990.