



EFEITO DO 4-HEXILRESORCINOL NO CONTROLE DO ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO EM MAÇÃS MINIMAMENTE PROCESSADAS

EFFECT OF 4-HEXYLRESORCINOL IN THE CONTROL OF ENZYMATIC ENRICHMENT IN MINOR PROCESSED APPLES

Jardel Araujo Ribeiro¹, Mauricio Seifert², Rufino Fernando Flores Cantillano³, Elisa dos Santos Pereira⁴, Taiane Mota Camargo⁵, Vanessa Fernandes Araujo⁶, Leonardo Nora⁷

Resumo

O processamento mínimo é uma das maneiras de incentivar o consumo e comercialização de frutas. A maçã tem disponibilidade no mercado durante todo o ano e potencial para ser comercializada minimamente processada. No entanto, essas frutas são suscetíveis ao escurecimento enzimático, o qual é um importante problema de qualidade que afeta o consumo, mas que pode ser controlado mediante o uso de produtos antioxidantes. O objetivo do presente trabalho foi avaliar uma nova alternativa de agente antioxidante e sua concentração mais adequada para manutenção de atributos físico-químicos, principalmente a cor, em maçãs 'Royal Gala', minimamente processadas, durante o armazenamento a frio. As maçãs procedentes de Vacaria/RS, após selecionadas e sanitizadas, foram cortadas em gomos, tratadas somente água destilada (controle experimental, CT), cloreto de L-cisteína 0,6 % (LC), 4-hexylresorcinol 0,1 % (4-HR 0,1 %), 4-hexylresorcinol 0,2 % (4-HR 0,2 %) e 4-hexylresorcinol 0,3 % (4-HR 0,3 %). Imediatamente após estes tratamentos, os gomos foram dispostos em bandejas de poliestireno expandido, recobertos com filme de PVC e armazenados a 4 °C, com umidade relativa de 90 %. As avaliações foram realizadas após 0 dias (d), 3 d, 6 d e 9 d. Nenhuma das concentrações testadas de 4-HR (0,1 %, 0,2 % e 0,3 %) foi adequada para preservar a qualidade das maçãs minimamente processadas, pois uma avaliação visual permitiu constatar que as maçãs tratadas nas diferentes concentrações de 4-HR apresentaram acentuado escurecimento nos feixes vasculares e em algumas regiões do mesocarpo do fruto. Além disso, a eficácia das diferentes concentrações de 4-hexilresorcinol foi inferior a dos tratamentos LC e CT na variável luminosidade (L*).

¹Biólogo e Doutorando em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Pelotas.

²Tecnólogo em Alimentos e Doutorando em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Pelotas.

³Engenheiro Agrônomo e Dr. em Agronomia na Embrapa Clima Temperado.

⁴Nutricionista e Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Pelotas.

⁵Química de Alimentos e Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Pelotas.

⁶Engenheira Agrônoma e Dra. em Agronomia na Embrapa.

⁷Engenheiro Agrônomo e PhD em Agronomia na Universidade Federal de Pelotas.

Todos os tratamentos com antioxidantes, independentemente da concentração, controlaram o escurecimento enzimático até o sexto dia de armazenamento, mas no nono dia, apenas o 4-HR 0,3 % foi eficiente. A enzima peroxidase foi inibida durante os nove dias de armazenamento, independentemente da concentração de 4-HR utilizada. Já a polifenoloxidase teve menor atividade apenas nas maçãs tratadas com 4-HR 0,2 % e 4-HR 0,3 %, até o sexto dia de armazenamento.

Palavras-chave: Antioxidantes, qualidade, pré-cortados, polifenoloxidase, peroxidase

Abstract

*Fresh-cut is one of the ways to encourage fruit consumption and marketing. The apple has availability on the market throughout the year and has potential to be marketed minimally processed. However, these fruits are susceptible to enzymatic browning which is an important quality problem that affects consumption but can be controlled using antioxidant products. The aim of the present work was to evaluate a new alternative of antioxidant agent and its optimum concentration for physicochemical attributes maintenance, mainly color, in 'Gala' minimally processed apples during cold storage. Apples from Vacaria/RS after selected and sanitized were cut and divided in segments and treated with distilled water (CT) as control, 0.6% L-cysteine chloride (LC), 0.1% 4-hexylresorcinol (4-HR 0.1%), 4-hexylresorcinol 0.2% (4-RH 0.2%) and 4-hexylresorcinol 0.3% (4-RH 0.3%). After processing the fruits were packed in expanded polystyrene trays, covered with PVC film and stored at 4 °C, 90% relative humidity and evaluated for 0, 3, 6 and 9 days. None of the tested concentrations of 4-HR (0.1%, 0.2% and 0.3%) was adequate to preserve the quality of the minimally processed apples, since a visual evaluation showed that apples treated at different concentrations of 4 -HR presented a marked darkening in the vascular bundles and in some regions of the mesocarp of the fruit. In addition, the efficacy of the different concentrations of 4-hexylresorcinol was lower than that of the LC and CT treatments in the luminosity variable (L *). All antioxidants treatments, regardless of concentration, were efficient in controlling the enzymatic browning until the sixth day of storage, but on the ninth day only the 4-HR 0.3% was efficient. The peroxidase enzyme was inhibited during the nine days of storage, regardless the concentration of 4-RH used. However, the polyphenoloxidase had lower activity only in apples treated with 4-HR at concentrations of 0.2% and 0.3% until the sixth day of storage.*

Keywords: Antioxidants, quality, fresh-cut, polyphenoloxidase, peroxidase

INTRODUÇÃO

O processamento mínimo é uma das maneiras de incentivar o consumo e comercialização de frutas, pois além de proporcionar a disponibilidade destes

produtos em porções individuais, aumenta a praticidade para a aquisição e ingestão destes alimentos (AGUAYO et al., 2015). A maçã (*Malus domestica* Borkh), além de ser o terceira fruta mais produzido no mundo (FAOSTAT, 2014), é cultivado em vários países e matéria-prima para muitos produtos alimentares (JOKIĆ et al., 2009), tendo potencial para comercialização como produto minimamente processado (MP). Entretanto, pelo dano mecânico, a maçã MP se torna mais perecível pela maior exposição à luz e ao oxigênio. Além disto, ocorre aumento no metabolismo respiratório e de maturação. A maioria das cultivares de maçã é altamente sensível ao escurecimento enzimático, seja pela elevada concentração de compostos fenólicos ou atividade de enzimas oxidativas, com destaque para a peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) (HOLDERBAUM et al., 2010). Para prevenir o escurecimento enzimático da polpa de maçãs MP, uma das alternativas é o uso de agentes antioxidantes, pois a cor da superfície de um fruto MP é um dos atributos de qualidade mais importante, já que os consumidores geralmente julgam a qualidade de frutas e hortaliças MP baseados na sua aparência (JANG; MOON, 2011). Daí a importância de definir condições de processamento para manter as características originais dos vegetais MP (JOKIĆ et al., [2009](#)), pois estima-se que mais de 50 % das perdas de frutos e vegetais na indústria de transformação seja decorrente da aparência indesejável que reduz a qualidade do produto (REDONDO et al., 2016). Atualmente, os principais obstáculos para minimizar o escurecimento são o uso de baixas temperaturas em toda a cadeia de produção e a adição de inibidores de PPO e/ou antioxidantes ([SAPERS; MILLER, 1998](#); [BUTA; ABBOTT, 2000](#); [GORNÝ et al., 2002](#)). A L-cisteína é um antioxidante comumente utilizado para inibir o escurecimento da polpa de MP, no entanto, vários autores citam o sabor sulfúrico trazido por este coadjuvante (VASCONCELOS et al., 2015; BOTREL et al., 2010; YU; TAN; WANG, 2012). O 4-hexilresorcinol (4-HR) é outro agente coadjuvante com potencial para ser utilizado em minimamente processados (CHAIKAKDANUGULL; TREERAKULKAIT, 2009; ROSA, et al., 2011), no entanto, segundo Ghidelli et al., (2013), há poucos estudos mostrando o efeito do 4-HR no controle do escurecimento enzimático de frutas e hortaliças. Além disso, os resultados variam dependendo do produto, das concentrações e da combinação ou não com outros antioxidantes. Diante do exposto, optou-se no presente trabalho testar a concentração mais

adequada de 4-HR para manutenção de atributos de qualidade em maçãs 'Royal Gala', minimamente processadas, durante o armazenamento a frio.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material

Foram utilizadas maçãs (*Malus domestica* Borkh 'Royal Gala') de um pomar comercial localizado na cidade de Vacaria/RS, Brasil, colhidas no ano de 2014).

Colheita e armazenamento dos frutas

As maçãs foram colhidas quando alcançaram seu ponto de maturação comercial, considerando-se teor de amido, firmeza da polpa, e concentração de sólidos solúveis totais. Foram selecionadas quanto ao tamanho, ausência de danos mecânicos visíveis e de podridão. Posteriormente as frutas foram armazenadas a 1,0 °C, umidade relativa 90,0 % ± 5,0 %, preparadas e analisadas no Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa Clima Temperado.

Sanitização, preparo das frutas e soluções com os agentes antioxidantes

A sanitização ocorreu com imersão da fruta *in natura* em solução de hipoclorito de sódio (100 ppm, pH 6,5 e a temperatura de 5,0 °C a 8,0 °C), por 10 minutos. Para ser tratado com agente antioxidante a fruta foi cortada em quatro fatias longitudinais, aproximadamente com mesmo tamanho e em forma de gomos, sendo que a região do eixo central do fruta e as sementes foram descartadas e epiderme preservada. Imediatamente após o corte, as fatias permaneceram imersas por um minuto em:

(a) água destilada (controle, CT), (b) cloreto de L-cisteína 0,6 %, (LC), (c) 4-hexylresorcinol 0,1 % (4-HR 0,1%), (d) 4-hexylresorcinol 0,2 % (4-HR 0,2%) e (e) 4-hexylresorcinol 0,3 % (4-HR 0,3%), retiradas dos agentes coadjuvantes e

drenadas por 5 minutos. Os gomos tratados foram colocados em bandeja de poliestireno expandido e juntamente com a bandeja foram recobertos com filme de PVC extensível de 9 µm de espessura, armazenados por quatro períodos (0 d, 3 d, 6 d e 9 d), a 4 °C ± 1,0 °C e UR de 90,0 % ± 5,0 %, para simular a vida de prateleira.

Análises físico-químicas

Cor: mensurada com colorímetro Minolta CR-400 na região equatorial da fruta, com sistema de leitura CIE L*a*b*, proposto pela *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE). A partir dos valores dessas variáveis (L*, a*, e b*) foi calculado o Índice de Escurecimento (IE), de acordo com PALOU et al., (1999). **Acidez titulável:** realizada pela titulação de 10 mL do suco da polpa diluída em 90mL de água destilada, com solução de NaOH 0,1N até atingir o ponto de viragem no pH 8,1. Os resultados foram expressos em gramas de ácido málico por 100 g⁻¹ de fruta fresca (BOTH et al., 2017); **Sólidos solúveis:** quantificados com um refratômetro digital manual, marca ATAGO, modelo PAL-1. Os resultados foram expressos em °Brix; **Perda de massa:** mensurada conforme Pereira et al., (2006) e os resultados expressos em percentagem (%); **Firmeza da polpa:** mensurada de acordo com Melo; Vilas Boas; Justo, (2009), sendo o resultado expresso em Newton (N); **Ratio:** consiste no quociente entre as variáveis sólidos solúveis e acidez titulável, sendo expresso sem unidade; **Atividade antioxidante (DPPH):** mensurada conforme o método de BrandWilliams et al., (2005), com algumas modificações. O extrato de maçã (100 µL) foi deixado reagir com 3900 µL da solução de DPPH diluído em metanol por 24 h, no escuro. A amostra em branco consistiu em 0,1 mL de metanol adicionado a 3,9 mL de DPPH. A absorbância foi então medida a 515 nm. **Fenólicos Totais:** metodologia adaptada de Swain e Hillis (1959). Extrato de maçã (250 µL) foi adicionado de 4 mL de água ultrapura e de 250 µL do reagente Folin-Ciocalteau (0,25 N), homogeneizado e mantido em repouso por 3 min para reagir. Após este tempo, o extrato de maçã foi adicionado de 500 µL de carbonato de sódio (1 N), homogenizado e mantido em repouso por 2 h para reagir. Ao final a absorbância do extrato de maçã foi medida à 725 nm. Os resultados foram expressos em mg de ácido clorogênico / 100 g de fruta *in natura*. **Polifenoloxidase (PPO):** metodologia

adaptada de Cano et al., (1997), determinada medindo a taxa de aumento da absorbância a 420 nm a 25 °C. Para obtenção do extrato, 5 g de maçã foram homogeneizados em ultraturrax numa solução contendo 10 mL de tampão fosfato de sódio 0,2 M, pH 7 e 0,2 g de polivinilpirrolidona (PVP), posteriormente filtrado e centrifugado a 16000 g. Em seguida foi adicionado 0,1 mL do sobrenadante do extrato, 2,9 mL de solução de catecol 0,11 M em tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0) e após agitados. A atividade enzimática foi determinada no espectrofotômetro na absorbância de 420 nm até três minutos após agregar o extrato enzimático sendo expressa como $\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$. **Peroxidase (POD)**: adaptada de Cano et al., (1997), determinada medindo a taxa de aumento da absorbância a 485 nm, 25°C. Onde, 50 μL de extrato de maçã foi adicionado de 2,7 mL de tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0), 0,1 μL de peróxido de hidrogênio 1,5 % (v/v), 200 μL de solução de guaiacol (p/v). A atividade enzimática foi calculada com base no aumento da absorbância em 485 nm em função do tempo (até 3 min), sendo expressa como $\Delta A_{485} \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema bifatorial com três repetições. Os fatores de experimentais foram o tempo de armazenamento (0 d, 3 d, 6 d e 9 d) e os agentes antioxidantes (água, L-cisteína 0,6 % e 4-hexylresorcinol nas concentrações de 0,1 %; 0,2 % e 0,3 %). Os dados foram analisados quanto a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homocedasticidade pelo teste de Hartley. Posteriormente, executou-se a análise de variância ($p \leq 0,05$). Quando esta foi significativa, as médias foram comparadas pelo teste DMS - Diferenças Mínimas Significativas ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação a cor (variáveis L^* , a^* , b^* e índice de escurecimento), observou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os diferentes tratamentos nessas variáveis (Figura 1: A, B, C, D). Na variável L^* , observou-se que o tratamento LC foi o que proporcionou a maior luminosidade nas maçãs minimamente processadas no início

do armazenamento (0 d), mas após 3 d, 6 d e 9 d este coadjuvante não diferiu estatisticamente do CT. Já a eficácia das diferentes concentrações do 4-hexilresorcinol (4-HR) foi inferior aos tratamentos LC e CT em todos os períodos avaliados. Quando aumentou a concentração de 4-HR diminuiu a luminosidade (Figura 1 A). Verificou-se também que o escurecimento da polpa da maçã tratada com estes coadjuvantes se acentuou ao longo do armazenamento. Perez-Cabrera et al., (2011) ao trabalharem com peras MP relataram que os tratamentos com soluções de 4-HR deram origem a amostras mais escuras (menor luminosidade). A diminuição na luminosidade segundo Mirshekari; Madani; Golding, (2017) pode ser atribuída a perda da translucidez, que comumente ocorre em outros frutos MP. González-Aguilar; Wang; Buta, (2000) relataram que banhar fatias de manga em 4-HR 0,02 % não reduziu a queda no brilho. A utilização de concentrações mais elevadas de 4-HR (0,5 %, 1 % e 1,5 %) por Oms-Oliu; Aguiló-Aguayo; Martín-Belloso, (2006) também não preservou a cor em peras MP e a utilização de 4-HR 2% além de não preservar a cor, provocou um escurecimento mais acentuado quando comparado ao controle. Na variável a^* , que é um parâmetro importante para o estudo do escurecimento, pois a cor marrom resultante das melaninas representa uma combinação entre o verde ($-a^*$) e o vermelho ($+a^*$) (OLIVEIRA et al., 2008) verificou-se que o tratamento LC foi o antioxidante que proporcionou a coloração mais clara na polpa das maçãs nos 6 primeiros dias de armazenamento (Figura 1B). A L-cisteína atua impedindo a formação de pigmentos marrons por reagir com os compostos intermediários de quinona, formando compostos incolores estáveis, pois os adutos de cisteína-quinona são comprovadamente inibidores competitivos da PPO (IYIDOGAN; BAYINDIRLI, 2004). Verificou-se também que ocorreu aumento no escurecimento da polpa ao longo dos 9 dias de armazenamento, independente do coadjuvante utilizado. No início do armazenamento (0 d) as frutas apresentavam tons esverdeados, cor natural da maçã, mas ao final do armazenamento (9 d) apresentavam tons avermelhados, típicos em polpa escurecida. Os resultados observados nas variáveis L^* e a^* são semelhantes aos descritos por Ghidelli et al., (2013). Ao trabalhar com alcachofras, esses autores relataram que aumento na concentração de 4-HR resulta na diminuição em L^* e em a^* , indicando que o 4-HR causa danos no tecido nas concentrações testadas. Na coordenada b^* , que indica a variação entre o azul ($-b^*$)

e amarelo (+b*), ao final do armazenamento (9 d) observou-se que no tratamento CT as frutas apresentaram a coloração da polpa mais escura do que as maçãs tratadas com antioxidantes. O tratamento 4-HR 0,2 % manteve as frutas mais claras até 6 dias de armazenamento. Já o 4-HR 0,3 % manteve a tonalidade mais clara de 3 d a 9 d de armazenamento. No que concerne ao índice de escurecimento (IE), o resultado é semelhante ao observado na variável b*, onde o CT proporcionou frutas mais escuras ao final de 9 d de armazenamento, não diferindo estatisticamente do 4-HR 0,1 % após 6 d de armazenamento. Os tratamentos LC, 4-HR 0,2 % e 0,3 % de maneira geral conseguiram inibir o escurecimento da polpa até o sexto dia de armazenamento, mas ao final do armazenamento (9 d), foi o tratamento 4-HR 0,3 % que manteve a polpa das maçãs com a cor mais clara. Verificou-se tendência de aumento no IE ao longo do armazenamento em todos os tratamentos avaliados neste experimento (Figura 1 D). Além disso, ocorreu um escurecimento acentuado nos feixes vasculares e em algumas regiões do mesocarpo, não mensurado adequadamente pelo colorímetro. Segundo Luo; Barbosa-Canovas, (1995) o escurecimento acentuado nos feixes vasculares pode ser explicado pela elevada atividade enzimática nestas regiões combinadas com o mecanismo de ação do 4-HR (ARIAS et al., 2007). Soares et al., (2006) relatou uma avaliação visual em seu experimento devido a dificuldade para mensurar todos os detalhes observados utilizando o colorímetro. Fazendo isso, diferentemente dos resultados obtidos com o colorímetro, constatou-se que as diferentes concentrações de 4-HR alteraram a cor natural das frutas. Nas frutas, os substratos estão compartimentados na célula. Quando ocorre um estresse físico, como corte, a compartimentação de algumas células é danificada (MARANGONI et al., 1996). Em consequência, polifenóis (como por exemplo a catequina) entram em contato com a PPO e/ou POD (DEGL'INNOCENTI et al., 2005) com mais ênfase em algumas áreas do que outras, provocando padrões de cores não uniformes que emergem durante o escurecimento enzimático (QUEVEDO et al., 2011). Isso explicaria o porque do escurecimento desuniforme e evidenciaria a ineficácia do 4-HR no controle do escurecimento da polpa de maçãs MP. A perda de massa (dados não apresentados) verificada periodicamente durante o armazenamento revelou que os antioxidantes não interferiram diretamente nesta variável sendo que a média de perda de massa ao

final do armazenamento (9 d) foi de 2,1 %, não comprometendo a qualidade do produto. Resultado semelhante foi encontrado por Song et al., (2013). Normalmente quando as frutas perdem massa, a firmeza (Figura 1 E) aumenta. No entanto, nas maçãs tratadas com 4-HR ocorreu o contrário, uma diminuição na firmeza da polpa nos três primeiros dias de armazenamento de 17% no 4-HR 0,1% (2,52 N - 2,09 N), 27% no 4-HR 0,2% (2 N - 1,45 N) e 19% no 4-HR 0,3 (2,08 N - 1,68 N). A diminuição na firmeza da polpa se deve em parte à degradação (solubilização) de componentes da parede celular, principalmente pectinas. Segundo Costa et al., (2011) a firmeza também pode estar relacionada à perda de massa e à degradação por enzimas de deterioração da parede celular, tais como a poligalacturonase e a pectinesterase, senescência e perecibilidade do produto pelo aumento da atividade metabólica. Diante disso, a diminuição da firmeza das maçãs banhadas com este antioxidante pode estar relacionada a alteração ou degradação de componentes da parede celular.

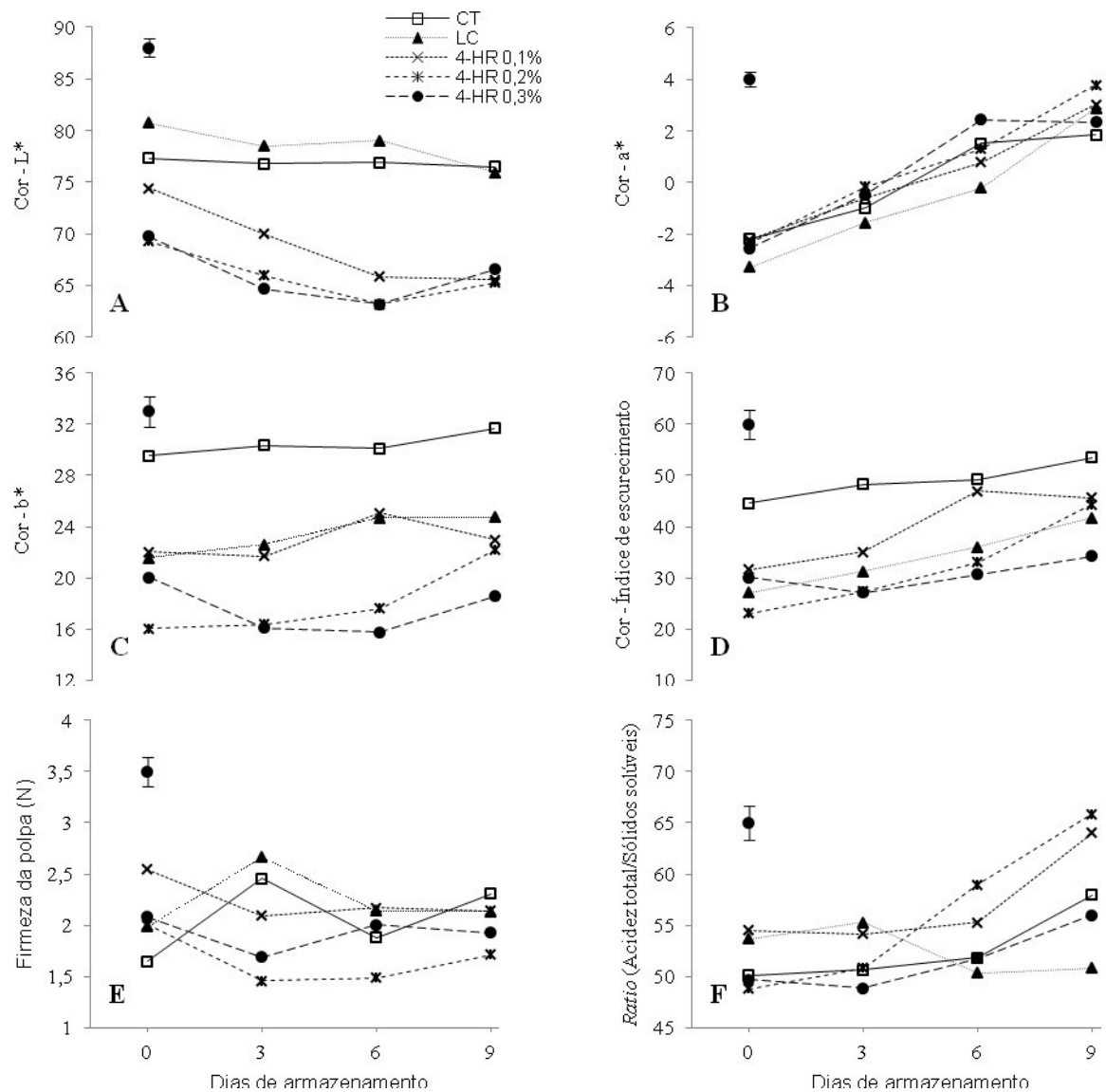


Figura 1. Variáveis de cor L* (A), a* (B), b* (C), índice de escurecimento (D), firmeza da polpa [N] (E) e *ratio* (relação sólidos solúveis / acidez total) (F) em maçãs cultivar 'Royal Gala' minimamente processadas, tratadas com: água destilada (controle, CT), cloreto de L-cisteína 0,6 % (LC), 4-hexylresorcinol 0,1 % (4-HR 0,1 %), 4-hexylresorcinol 0,2 % (4-HR 0,2 %) e 4-hexylresorcinol 0,3 % (4-HR 0,3 %). Barra vertical: Teste de Diferença Mínima Significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

O *ratio* (Figura 2.F), que é a relação entre sólidos solúveis e acidez titulável, apresentou um moderado aumento ao longo do armazenamento nos tratamentos CT e 4-HR 0,3 % e um aumento mais acentuado nos tratamentos 4-HR 0,1 % e 4-HR 0,2 % (Figura 1 F). Segundo Piagentini; Pirovani, (2017) uma mudança na proporção entre essas variáveis pode ter um grande impacto no sabor da maçã, indicando que as concentrações mais baixas de 4-HR degrada a qualidade da fruta ao longo do

armazenamento. O aumento observado entre as diferentes concentrações de 4-HR e o CT pode ser explicado pela metabolização dos ácidos orgânicos na via respiratória e posterior conversão em moléculas não ácidas (PECH et al., 2008) diminuindo assim o resultado desta relação. Na figura 2 G, onde são apresentados os resultados dos fenóis totais, verificou-se que as maçãs do tratamento 4-HR 0,2 % tiveram uma redução de 35 % deste composto, entre os dias zero e sexto, com uma posterior estabilização aos 9 dias. Essa queda não deveria ter ocorrido pois o 4-HR é um inibidor específico da catecol-oxidase (DAWLEY; FLURKEY, 1993), uma enzima que oxida compostos fenólicos. Já o CT apresentou um leve aumento no decorrer dos nove dias de armazenamento. Quanto aos demais tratamentos, embora tenha ocorrido oscilação ao longo do armazenamento, a quantidade de fenóis totais se manteve praticamente inalterada entre ao longo do armazenamento (0 d – 9 d). Segundo Ceymann et al., (2012) o teor de fenóis normal em maçãs varia de 50 mg a 380 mg por 100 g de massa fresca, dependendo da cultivar. Com relação à atividade antioxidante (Figura 2.H) constatou-se que ocorreu uma diminuição dela nas maçãs tratadas com 4-HR 0,1 %, 0,2 % e CT até o sexto dia de armazenamento. Já as maçãs tratadas com LC e 4-HR 0,3 % se mantiveram praticamente estáveis neste mesmo período. No nono dia, apenas o 4-HR 0,3 % manteve a atividade praticamente inalterada em relação ao início do armazenamento (0 d). O resultado positivo observado para LC, até o sexto dia de armazenamento, pode ser atribuído a sua capacidade de reprimir a oxidação de antocianinas e compostos fenólicos, pois estes compostos contribuem para a atividade antioxidante (ALI; KHAN; MALIK, 2016). Esses resultados são coerentes com os observados nas variáveis cor (a^*) e fenóis totais, pois a LC manteve bons resultados até o sexto dia de armazenamento.

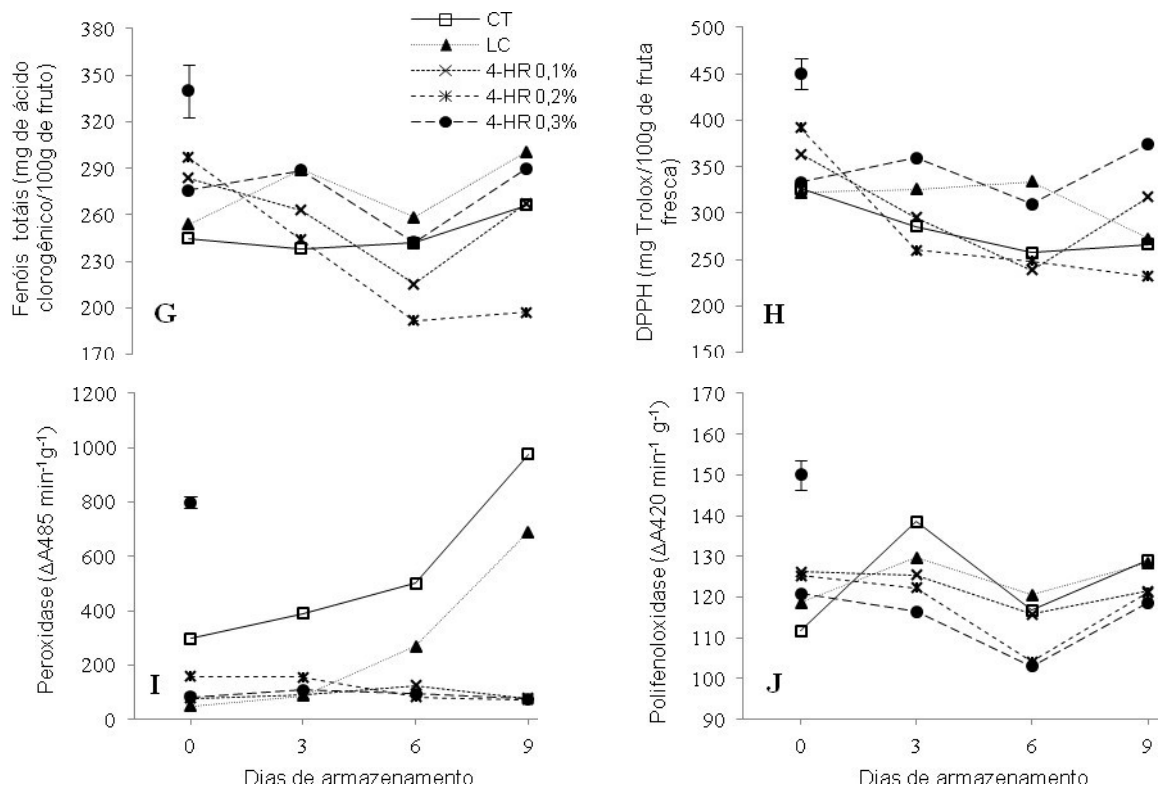


Figura 2. Parâmetros de fenóis totais [mg de ácido clorogênico / 100g de fruta fresca] (G), Atividade antioxidante - DPPH [mg Trolox / 100g de fruta fresca] (H), atividade de peroxidase [$\Delta A_{485} \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$] (I), atividade de polifenoloxidase [$\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1}$] (J) em maçãs cultivar 'Royal Gala' minimamente processadas, tratadas com: água destilada (controle, CT), cloreto de L-cisteína 0,6 % (LC), 4-hexylresorcinol 0,1 % (4-HR 0,1 %), 4-hexylresorcinol 0,2 % (4-HR 0,2%) e 4-hexylresorcinol 0,3 % (4-HR 0,3 %). Barra vertical: Teste de Diferença Mínima Significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

A importância no controle da PPO e POD após o PM se deve ao fato destas enzimas estarem envolvidas no processo de escurecimento que ocorre quase instantaneamente quando a estrutura sub-celular é comprometida e a enzima e o substrato entram em contato (JANG; MOON, 2011). No que concerne a POD verificou-se que independente da concentração utilizada de 4-HR, houve controle na atividade desta enzima ao longo dos nove dias de armazenamento (Figura 2 I). Isso indica que a concentração mínima desse produto utilizada neste experimento (4-HR 0,1 %) é suficiente para inibir a atividade da POD. Já a LC inibiu satisfatoriamente a atividade da POD até o terceiro dia, aumentando significativamente ao final de 6 d e de 9 d de armazenamento. O efetivo controle da POD pelo 4-HR é um resultado importante, pois ela está intimamente relacionada com a perda de sabor e odor de alimentos armazenados, bem como a uma grande variedade de reações de

biodegradação (CLEMENTE, 1998). Em relação a PPO, constata-se que as maçãs tratadas com 4-HR 0,2 % e 0,3 % apresentaram atividade enzimática inferior ao CT e a LC após 3 d e 6 d de armazenamento. Já ao final do armazenamento (9 d), independente da concentração utilizada de 4-HR, a atividade da PPO foi inferior aos outros tratamentos (Figura 2 J). Segundo Arias et al., (2007), a ação reduzida da PPO pelo 4-HR pode ser explicada pela alta afinidade do 4-HR pela polifenoloxidase, o que torna o complexo 4-HR-PPO estável. Esta elevada afinidade é provavelmente devida ao fato de que o 4-RH é um análogo de substrato de PPO: que contém um anel aromático com grupos hidroxila, como substratos de polifenoloxidase, e uma cadeia alifática apolar, o que aumenta a sua afinidade por esta enzima (ARIAS et al., 2007). Além disso, o 4-HR foi classificado como um inibidor lento da enzima PPO (JIMÉNEZ; GARCÍA-CARMONA, 1997), que se liga preferencialmente às formas intermediárias da enzima no ciclo catalítico (ARIAS et al., 2007). Segundo Rojas-Graü; Soliva-Fortuny; Martín-Belloso, (2008), o aumento na atividade de PPO observada após 6 d e 9 d de armazenamento, pode ser atribuído a diminuição de 4-hexilresorcinol durante o armazenamento.

CONCLUSÃO

Nenhuma das concentrações testadas de 4-HR (0,1 %, 0,2 % e 0,3 %) foi adequada para preservar a qualidade de maçã minimamente processada. Os tratamentos 4-HR 0,2 %, 4-HR 0,3 % e LC foram equivalente no controle do escurecimento até o sexto dia de armazenamento, porém, ao final do armazenamento (9 d) o tratamento 4-HR 0,3 % foi o mais eficiente. No entanto, uma avaliação visual permitiu constatar que as maçãs tratadas com diferentes concentrações de 4-HR apresentaram acentuado escurecimento nos feixes vasculares e em algumas regiões do mesocarpo da fruta. Verificou-se também que o valor L^* diminuiu significativamente e que a atividade da enzima peroxidase foi inibida satisfatoriamente ao longo do armazenamento.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, J.; BUTA, J. 2002. Effect of antibrowning treatment on color and firmness of freshcut pears. **J Food Qual** 25:333–41.
- AGUAYO, E.; REQUEJO-JACKMAN, C.; STANLEY, R.; WOOLF, A. Hot water treatment in combination with calcium ascorbate dips increases bioactive compounds and helps to maintain freshcut apple quality. **Postharvest Biology and Technology** 110 (2015) 158-165.
- ALI, S.; KHAN, A.S.; MALIK, A.U. Postharvest L-cysteine application delayed pericarp browning, suppressed lipid peroxidation and maintained antioxidative activities of litchi fruit. **Postharvest Biology and Technology** 121 (2016) 135-142.
- ARIAS, E.; GONZALEZ, J.; PEIRO, J. M.; ORIA, R.; LOPEZ-BUESA, P. (2007). Browning prevention by ascorbic acid and 4-hexylresorcinol: different mechanisms of action on polyphenol oxidase in the presence and in the absence of substrates. **Journal of Food Science**, 72(9), 464-470.
- BOTH, V; THEWES, F. R.; BRACKMANN, A; ANESE, R. O.; FERREIRA, D. F.; WAGNER, R. Effects of dynamic controlled atmosphere by respiratory quotient on some quality parameters and volatile profile of 'Royal Gala' apple after long-term storage. **Food Chemistry** 215 (2017) 483–492.
- BOTREL, D.A.; SOARES, N.F.F.; CAMILLOTO, G.P.; FERNANDES, R.V.B. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. **Ciência Rural**, v.40, n.8, ago, 2010.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology** 1995; 28:25-30.
- CANO, M.P.; ANCOS, B.; MATAALLANA, M.C.; CAMARA, M.; REGLERO, G.; TABERA, J. Differences among spanish and latin-american banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, v.59, n.3, p.411-419, 1997.
- CEYMANN, M.; ARRIGONI, E.; SCHÄRER, H.; NISING, A. B.; HURRELL, R. F. Identification of apples rich in health-promoting flavan-3-ols and phenolic acids by measuring the polyphenol profile. **Journal of Food Composition and Analysis**, 26, 128–135, 2012.
- CHAISAKDANUGULL, C.; TREERAKULKAIT, C. Partial purification and characterisation of banana [Musa (AAA Group) 'Gros Michel'] polyphenol oxidase. **International Journal of Food Science and Technology** 2009, 44, 840–846.
- CLEMENTE, E. 1998. Purification and thermostability of purified isoperoxidases from oranges. **Phytochemistry** 49:29–36.

COSTA, A. C.; ANTUNES, P. L.; ROMBALDI, C. V.; GULARTE, M. A. Controle do escurecimento enzimático e da firmeza de polpa em pêssegos minimamente processados. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.41, n.6, p.1094-1101, jun, 2011.

DAWLEY, R.M.; FLURKEY, W.H. 1993. Differentiation of tyrosinase and laccase using 4-hexylresorcinol, a tyrosinase inhibitor. **Phytochemistry** 33, 281–284.

DEGL'INNOCENTI, E.; DEGL'INNOCENTI, E.; GUIDI, L.; PARDOSSI, A.; TOGNONI, F. 2005. Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. Var.

acephala). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 53, 9980–9984.

FAO/STAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases**. 2014. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em: 11 de maio de 2017.

GHIDELLI, C.; ROJAS-ARGUDO, C.; MATEOS, M.; PÉREZ-GAGO, M.B. Effect of antioxidants in controlling enzymatic browning of minimally processed persimmon 'Rojo Brillante'. **Postharvest Biology and Technology** 86 (2013) 487–493.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A.; WANG, C.Y.; BUTA, J.G. 2000. Maintaining quality of fresh-cut mangoes using antibrowning agents and modified atmosphere packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 48, 4204–4208.

GORNY, J.R.; HESS-PIERCE, B.; CIFUENTES, R.; KADER, A.A. 2002. Quality changes in fresh-cut pear slices as effected by controlled atmospheres and chemical preservatives. **Postharvest Biol Tec** 24:271–8.

HOLDERBAUM, D. F.; KON, T.; KUDO, T.; GUERRA, M. P. Enzymatic Browning, Polyphenol Oxidase Activity, and Polyphenols in Four Apple Cultivars: Dynamics during Fruit Development. **HORTSCIENCE** 45(8):1150–1154. 2010.

IYIDOGAN, N. F.; BAYINDIRLI, A. Effect of L-cysteine, kojic acid and 4-hexylresorcinol combination on inhibition of enzymatic browning in Amasya apple juice. **Journal of Food Engineering**, 62, 299304, 2004.

JANG, J.H.; MOON, K.D. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. **Food Chemistry** 124 (2011) 444–449.

JIMÉNEZ, M.; GARCÍA-CARMONA, F. 1997. 4-Substituted resorcinols (sulfite alternatives) as slow-binding inhibitors of tyrosinase catecholase activity. **J Agric Food Chem** 45:2061–5.

JOKIĆ, S.; VELIĆ, D.; BILIĆ, M.; LUKINAC, J.; PLANINIĆ, M.; BUCIĆ-KOJIĆ. A. Influence of process parameters and pre-treatments on quality and drying kinetics of apple samples. **Czech Journal of Food Sciences**, 27 (2009) 88-94.

- LUO, Y.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. (1995). Enzymatic browning of new and traditional apple cultivars and the inhibition by 4-hexylresorcinol. **In Proceedings of the IFT Annual Meeting** (pp 271). Chicago, USA: Institute of Food Technologists.
- MARANGONI, A.; MARANGONI, G.; PALMA, T.; STANLEY, D. 1996. Membrane effects in postharvest physiology. **Postharvest Biology and Technology** 7, 193–217.
- MELO, A. A. M.; VILAS BOAS, E. V. de BARROS.; JUSTO, C. F. Uso de aditivos químicos para a conservação pós-colheita de Banana ‘Maçã’ minimamente processada. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 33, n. 1, p. 228-236, jan./fev., 2009.
- MIRSHEKARI, A.; MADANI, B.; GOLDING, J. Suitability of combination of calcium propionate and chitosan for preserving minimally processed banana quality. **J Sci Food Agric** 2017; 97: 3706–3711.
- OLIVEIRA, T. M.; SOARES, N. de F. F.; de PAULA, C. D.; VIANA, G. A. Uso de embalagem ativa na inibição do escurecimento enzimático de maçãs. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 29, n. 1, p. 117-128, jan./mar. 2008.
- OMS-OLIU, G.; AGUILÓ-AGUAYO, I.; MARTÍN-BELLOSO, O. 2006. Inhibition of browning on freshcut pear wedges by natural compounds. **Journal of Food Science** 71, S216–S224.
- PALOU, E. et al. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1, p. 42-45, 1999.
- PECH, J.C.; BOUZAYEN, M.; LATCHÉ, A. Climacteric fruit ripening: ethylene-dependent and independent regulation of ripening pathways in melon fruit. **Plant Science**, v.175, p.114-120, 2008.
- PEREIRA, M. E. C.; SILVA, A. S., BISPO, A. S. R.; SANTOS, D. B.; SANTOS, S. B.; SANTOS, V. J. Amadurecimento de mamão formosa com revestimento comestível à base de fécula de mandioca. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 30, n. 6, p. 1116-1119, nov./dez., 2006.
- PEREZ-CABRERA, L.; CHAFER, M.; CHIRALT, A.; GONZALEZ-MARTINEZ, C. Effectiveness of antibrowning agents applied by vacuum impregnation on minimally processed pear. **LWT - Food Science and Technology** 44 (2011) 2273-2280.
- PIAGENTINI, A. M.; PIROVANI, M. E. Total Phenolics Content, Antioxidant Capacity, Physicochemical Attributes, and Browning Susceptibility of Different Apple Cultivars for Minimal Processing. **International Journal of Fruit Science**. vol. 17, no. 1, 102–116, 2017.
- QUEVEDO, R.; RONCEROS, B.; GARCIA, K.; LOPÉZ, P.; PEDRESCHI, F. Enzymatic browning in sliced and puréed avocado: A fractal kinetic study. **Journal of Food Engineering** 105 (2011) 210215.

REDONDO, D.; VENTURINI, M.E.; ORIA, R.; ARIAS, E. Inhibitory effect of microwaved thinned nectarine extracts on polyphenol oxidase activity. **Food Chemistry** 197 (2016) 603–610.

ROJAS-GRAÜ, M.A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effect of Natural Antibrowning Agents on Color and Related Enzymes in Fresh-Cut Fuji Apples as an Alternative to the Use of Ascorbic Acid. **Journal Of Food Science**. Vol. 73, Nr. 6, 2008.

ROSA, L.A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; MOYERS-MONTOYA, E.; VILLEGAS-OCHOA, M.; AYALAZAVALA, J.F.; HERNÁNDEZ, J.; RUIZ-CRUZ, S.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. Mechanism for the inhibition of apple juice enzymatic browning by Palo Fierro (desert ironweed) honey extract and other natural compounds. **LWT - Food Science and Technology** 44 (2011) 269-276.

SAPERS, G.M.; MILLER, R.L. 1998. Browning inhibition in fresh-cut pears. **J Food Sci** 63(2):342–6.

SOARES, N.F.F.; PIRES, A.C.S.; ENDO, E.; VILELA, M.A.P.; SILVA, A.F.; FONTES, E.A.F.; MELO, N.R. Desenvolvimento e avaliação de filme ativo na conservação de batata minimamente processada. **Revista Ceres**. 2006 - 53(307).

SONG, H.; JO, W.; SONG, N.; MIN, S.; SONG, K. B. Quality Change of Apple Slices Coated with Aloe vera Gel during Storage. **Journal of Food Science** Vol. 78, n. 6, 2013.

VASCONCELOS, C.M.; de OLIVEIRA, E.B.; ROSSI, E.N.; ARANTES, L.F.; PUSCHMANN, R.; CHAVES, J.B.P. Evaluating Strategies to Control Enzymatic Browning of Minimally Processed Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Food Bioprocess Technol.** 8:1982–1994, 2015.

YU, A.; TAN, Z.; WANG, F. Mechanism of formation of sulphur aroma compounds from L-ascorbic acid and L-cysteine during the Maillard reaction. **Food Chemistry**, 132 1316–1323, 2012.