

ALTERAÇÕES DE COR E ACTIVIDADE DA POLIFENOL OXIDASE DE CUBOS DE MAÇÃ ‘Starking’ REVESTIDOS COM ALGINATO E DESIDRATADOS POR CONVECÇÃO

SDS Fernandes¹; CAS Ribeiro²; RMSC Morais³; AMMB Morais⁴

CBQF, Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa, Universidade Católica Portuguesa, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto, Portugal, E-mail:

¹susana.dfernandes@gmail.com, ²cat_arauja@hotmail.com, ³rmmorais@esb.ucp.pt,

⁴abmorais@esb.ucp.pt

Resumo

O presente trabalho consistiu na aplicação de um revestimento comestível de alginato em cubos de maçã ‘Starking’ e subsequente desidratação por convecção. Pretendeu-se estudar o efeito que este revestimento poderia ter sobre a cor e a actividade da polifenol oxidase (PPO) dos cubos de maçã com teores em água variáveis. Os cubos de maçã foram desidratados a 20, 35 ou a 40°C, com fluxo paralelo de ar. Foram realizadas análises de cor (L*, a*, b*), actividade da PPO e matéria seca ao longo da secagem. A capacidade de absorção de água das amostras obtidas por secagem a 40°C também foi avaliada.

Os melhores resultados, relativamente ao aspecto e à actividade da PPO dos cubos de maçã revestidos com alginato, foram obtidos no processo de secagem com fluxo perpendicular de ar a 40°C, tendo sido previamente efectuado um branqueamento da maçã inteira com casca a 60°C, durante 10 minutos. Ao fim de duas semanas de exposição ao ar, os cubos de maçã secos a 40°C sem revestimento apresentaram uma maior absorção de água do que os cubos de maçã seca com revestimento, concluindo-se que o revestimento protege, em alguma medida, a amostra contra a absorção de água presente no ar.

1. INTRODUÇÃO

A polifenol oxidase (PPO) é uma enzima que promove o escurecimento enzimático dos frutos frescos cortados (a maçã ‘Starking’ é muito susceptível): na presença de oxigénio, induz a oxidação de compostos fenólicos a quinonas, levando à formação de pigmentos castanhos insolúveis (melaninas) (Whitaker, 1972).

O revestimento comestível apresenta-se como uma solução, que pode ser mais ou menos viscosa, que dará origem a uma película formada por polímeros, conferindo alguma protecção ao alimento. Além de representar uma boa barreira ao oxigénio, confere um brilho, muito apreciado pelos consumidores. As substâncias utilizadas nesta solução podem ser de origem natural ou sintética.

O alginato é um composto extraído da alga *Macrocystis pyrifera*, entre outras, que pode ser utilizado no revestimento comestível. A aplicação de alginato baseia-se em três características, sendo a primeira a capacidade de conferir corpo a uma solução, ou seja aumenta a sua viscosidade. A segunda característica é a sua tendência para formar géis. Estes formam-se da reacção química do alginato de sódio com o sal de cálcio; têm a

particularidade de não derreterem quando são aquecidos. A terceira propriedade é a sua capacidade de formar revestimentos de alginato de sódio (McHugh, 2003).

A secagem é um método de conservação, pelo qual as reacções químicas e enzimáticas podem ser atenuadas, enquanto a actividade da água diminui, inactivando também os microrganismos. Vários estudos foram efectuados acerca da aplicação de revestimentos comestíveis em maçã fresca (Olivas *et al.*, 2007, Rojas-Graü *et al.*, 2007). Contudo, há pouca informação acerca da desidratação de frutos cortados com revestimentos comestíveis: Lenart e Piotrowski (2001) estudaram o efeito de vários revestimentos nas propriedades físicas, tais com a actividade da água, a densidade e o encolhimento, de frutos secos por convecção.

O objectivo deste trabalho foi estudar o efeito do revestimento de alginato na cor e na actividade da PPO de cubos de maçã ‘Starking’ durante a secagem por ar quente. A capacidade de absorção da água foi também avaliada após duas semanas de exposição ao ar ambiente.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Material vegetal

As maçãs ‘Starking’ foram fornecidas por um produtor, Frutas Assunção, da região de Lamego. Os frutos não apresentavam lesões físicas ou microbiológicas visíveis e foram armazenadas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal e Tecnologia Pós-Colheita, a 4°C.

2.2. Preparação das amostras

As maçãs foram cortadas a meio, foi-lhes retirada a casca e, com uma forma, cortadas em cubos de 1,5 cm. Metade desses cubos foi mergulhada na solução de revestimento comestível durante, aproximadamente, 1 min; a outra metade foi utilizada como controlo.

2.3. Preparação do revestimento

A preparação do revestimento de alginato foi adaptada de Rojas-Graü (2007).

2.4. Experiências de secagem

Na primeira experiência, amostras com e sem revestimento foram secas simultaneamente em dois tabuleiros, a 20°C, 35°C, ou 40°C com ar à velocidade aproximadamente de 1 m/s e de humidade relativa de 20%, num secador de tabuleiros, de fluxo paralelo (Armfield, Technical Education, Ringwood Hampshire, Reino Unido).

Na segunda experiência, maçãs inteiras foram imersas em água a 60°C durante 1 min e, em seguida, foram cortadas em cubos e revestidas com solução de alginato e secas a 40°C, no secador de tabuleiros ou num secador de leite fluidizado (Armfield, Technical Education, Ringwood Hampshire, Reino Unido), com ar a 1 m/s.

2.5. Análises físico-químicas

2.5.1. Cor

Na medição da cor, foi utilizado um colorímetro por reflectância (Minolta, CR-300, Japão), no modo CIELab, que mede os parâmetros L*, a* e b*. Para realizar esta análise, retiraram-se cinco cubos de cada amostra (com e sem revestimento), nos quais foram efectuadas duas medições por cubo.

2.5.2. Matéria seca

Pequenas porções de maçã fresca e, posteriormente, de cada amostra retirada ao longo da secagem foram secas numa estufa (Binder, WTB), à temperatura de 105 °C durante 24h. Estes ensaios foram feitos em triplicado. A matéria seca foi calculada em percentagem, através da seguinte fórmula:

$$\text{Matéria seca (\%)} = \frac{mf - mi}{mi} * 100$$

2.5.3. Actividade da PPO

A determinação da actividade da PPO foi baseada no método de Rocha e Morais (2001). A actividade da enzima foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{Actividade da PPO (Ug}^{-1}\text{min}^{-1}\text{)} = \frac{\text{declive(Abs / seg)} * \text{vol.extrato(ml)} * 60(\text{seg / min})}{0,001(\text{Abs / U}) * \text{vol.amostra.cuvete(ml)} * \text{massa.amostra(g)}}$$

A actividade relativa da PPO foi calculada de acordo com a fórmula seguinte:

$$\text{Actividade relativa da PPO} = \frac{\text{actividade da PPO (Ug}^{-1}\text{min}^{-1}\text{)} * \text{MS0 (\%)}}{\text{actividade da PPO de maçã fresca (Ug}^{-1}\text{min}^{-1}\text{)} * \text{MS (\%)}}$$

Todas as determinações foram efectuadas em triplicado.

2.5.4. Capacidade absorção de água

A capacidade de absorção de água foi determinada em amostras com e sem revestimento de alginato, provenientes da segunda experiência realizada com fluxo paralelo de ar, a 40°C durante 26 horas. Alguns cubos de maçã das duas amostras foram pesados e colocados em placas de Petri, ao ar a uma temperatura cerca de 20°C e humidade relativa cerca de 50%, sendo posteriormente pesados após 15 dias.

2.6. Análise estatística

Realizou-se a análise estatística, utilizando o programa Statistica 6.0 © (ANOVA/MANOVA) (Stat Soft Inc., 1984-2001). As diferenças significativas entre as amostras foram detectadas pelo teste LSD Fisher post-hoc, considerando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1, pode verificar-se que, de modo geral, os valores de luminosidade diminuem inicialmente para, em seguida, aumentar até ao final da secagem, embora os valores de L^* não ultrapassem os da maçã fresca. Os valores de L^* das amostras com revestimento secas a 40°C e a 20°C não apresentam diferenças significativas, mas relativamente a 35°C, os valores de L^* das amostras secas a 40°C são mais elevados, o que pode indiciar que o escurecimento não tenha sido tão acentuado. Quanto às amostras sem revestimento, não há diferenças significativas relativamente às amostras com revestimento, para 40°C.

Analisando a figura 2, verifica-se que os índices de amarelo das amostras com revestimento de alginato não apresentam diferenças significativas relativamente aos das amostras sem revestimento. Para ambos os tipos de amostra os valores de b^* aumentam ao longo da secagem, o que é indicação de escurecimento dos tecidos.

O escurecimento enzimático, causado pela PPO, pode ser avaliado através da determinação da actividade da enzima. Assim, um aumento da actividade enzimática sugere um agravamento do escurecimento enzimático.

Todas as curvas da actividade relativa da PPO apresentaram um pico no início do processo de secagem dos cubos de maçã, com 14 a 17 % de matéria seca (Figura 3). Este pico poderia ser justificado por uma síntese *de novo* induzida pelo corte do tecido vegetal durante a preparação das amostras. Rocha *et al.* (2005) relataram um comportamento semelhante em cenoura descascada. Após esse pico, a actividade relativa diminui até ao final da secagem, para as três temperaturas testadas.

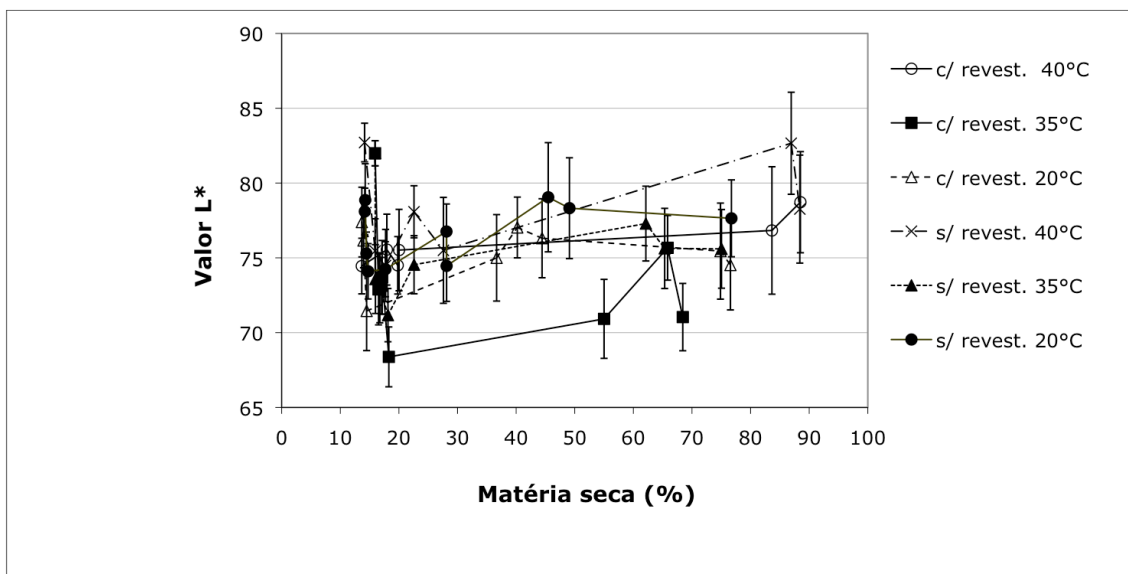


Figura 1 – Luminosidade (L*) de cubos de maçã ‘Starking’ com e sem revestimento de alginato, desidratados por convecção a 20°C, 35°C e 40°C.

Os cubos de maçã revestidos apresentaram valores de actividade enzimática relativa superiores aos das amostras não revestidas, para todas as temperaturas (Figura 3). Assim, o revestimento não parece ter sido eficaz na protecção contra a oxidação durante o processo de secagem, talvez por induzir uma actividade da água no interior dos cubos mais elevada do que nas amostras sem revestimento e sabe-se que a actividade enzimática é mais elevada para actividades da água mais elevadas (Karel, 1975). A actividade relativa da PPO foi mais baixa para cubos não revestidos a 40°C e 20°C. Por outro lado, os valores mais elevados deste parâmetro foram obtidos para as amostras revestidas secas a 35°C. Estes resultados podem ser compreendidos, atendendo a que a temperatura óptima para a actividade da PPO é cerca de 30°C (Eidhin *et al.*, 2006). Estes resultados estão em concordância com os resultados de L*: valores mais baixos para amostras revestidas com teores em água intermédios (matéria seca cerca de 55%) secas a 35°C (Figura 1).

De modo a tentar reduzir o escurecimento enzimático das amostras revestidas durante a secagem, foi efectuado um tratamento térmico prévio das maçãs inteiras a 60°C durante 10 min. Segundo Damaldi *et al.* (2006), a imersão de morangos em água a 50°C durante 10 min reduz a actividade da PPO de 44% e a enzima é completamente destruída a 65°C. Neste trabalho, o objectivo não era inactivar a enzima, mas sim estudar o efeito do revestimento na actividade durante o processo de secagem. De facto,

a actividade relativa da PPO diminuiu com o tratamento térmico (Figura 4), em relação à desidratação, a 40°C, sem tratamento prévio (Figura 3). Adicionalmente, o processo foi também efectuado num secador de leito fluidizado, com o objectivo de acelerar a secagem. O fluxo perpendicular de ar utilizado neste secador reduziu ainda mais a actividade enzimática relativa (Figura 4), embora os valores obtidos nos dois tipos de secador aproximam-se para teores elevados de matéria seca (90%). Estes resultados não se encontram em concordância com os resultados da cor, pois os valores de L* foram mais elevados no secador de fluxo paralelo, para o final da secagem (Figura 5). Não foram detectadas diferenças significativas dos valores de b* obtidos nos dois tipos de secador (Figura 6). Visualmente, as amostras revestidas secas no secador de leito fluidizado apresentavam melhor aspecto (aparentemente, menor escurecimento enzimático), o que não está de acordo com os resultados de L*, mas, todavia, com uma estrutura mais enrugada.

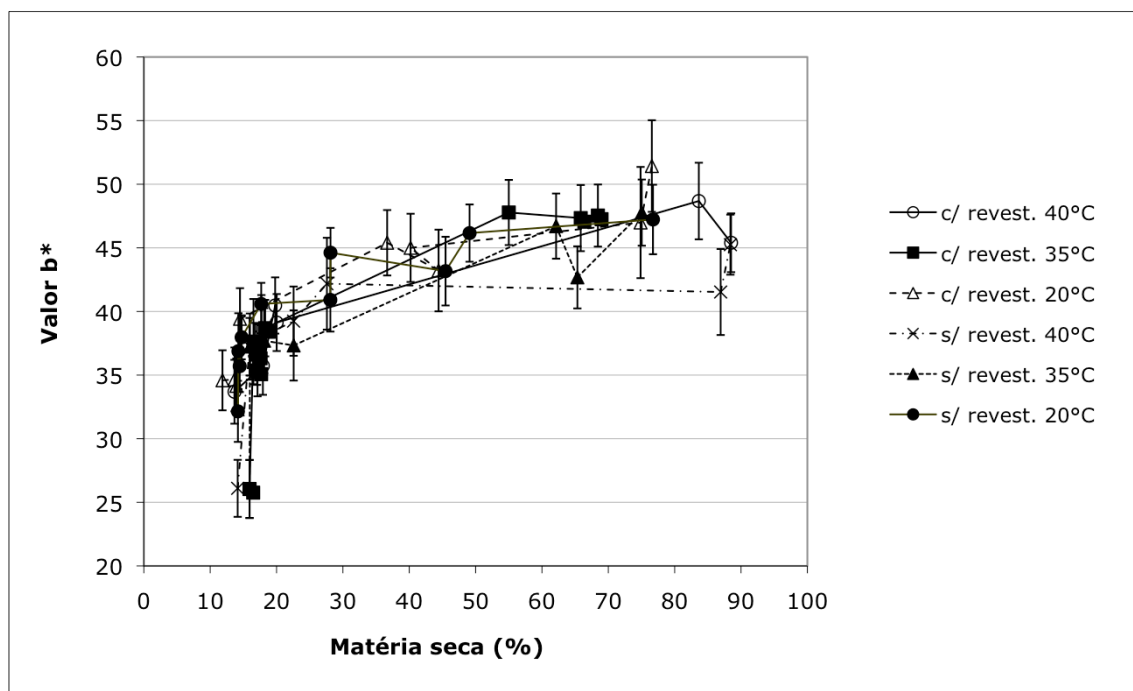


Figura 2 – Parâmetro b* de cubos de maçã ‘Starking’ com e sem revestimento de alginato, desidratados por convecção a 20°C, 35°C e 40°C.

Para obter um produto crocante, é importante estudar a absorção da água durante o tempo de prateleira, dado que poderá afectar a qualidade final do produto. Após duas semanas de exposição ao ar, os cubos de maçã revestidos apresentaram 25% de absorção de água e os não revestidos 45%, comprovando que o revestimento reduz

efectivamente a absorção de água dos cubos de maçã secos, conservando melhor a sua crocância.

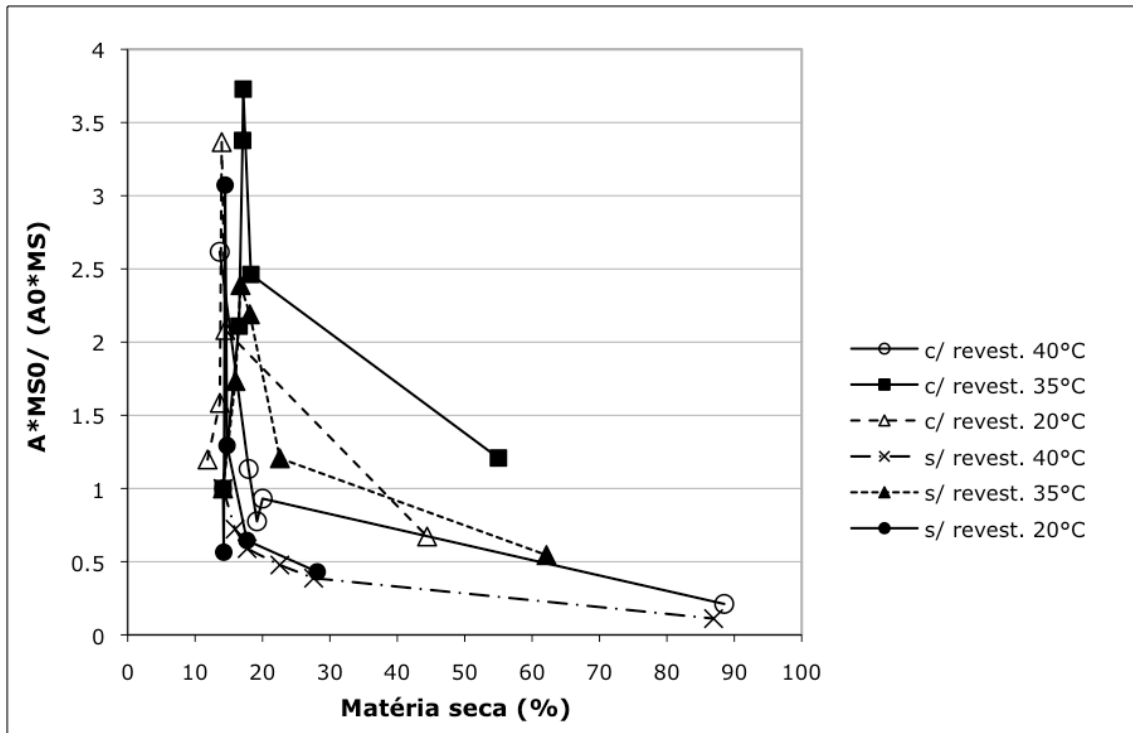


Figura 3 – Actividade relativa da PPO de cubos de maçã ‘Starking’ com e sem revestimento de alginato, desidratados por convecção a 20°C, 35°C e 40°C.

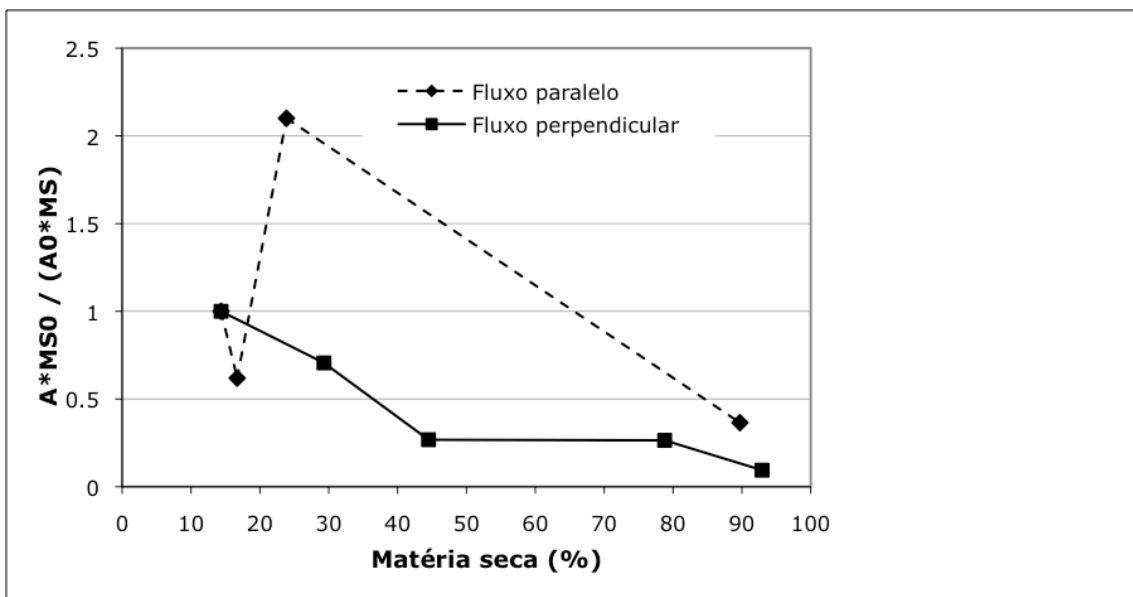


Figura 4 - Actividade relativa da PPO de cubos de maçã ‘Starking’ com revestimento de alginato, desidratados por fluxo paralelo e por fluxo perpendicular de ar a 40°C.

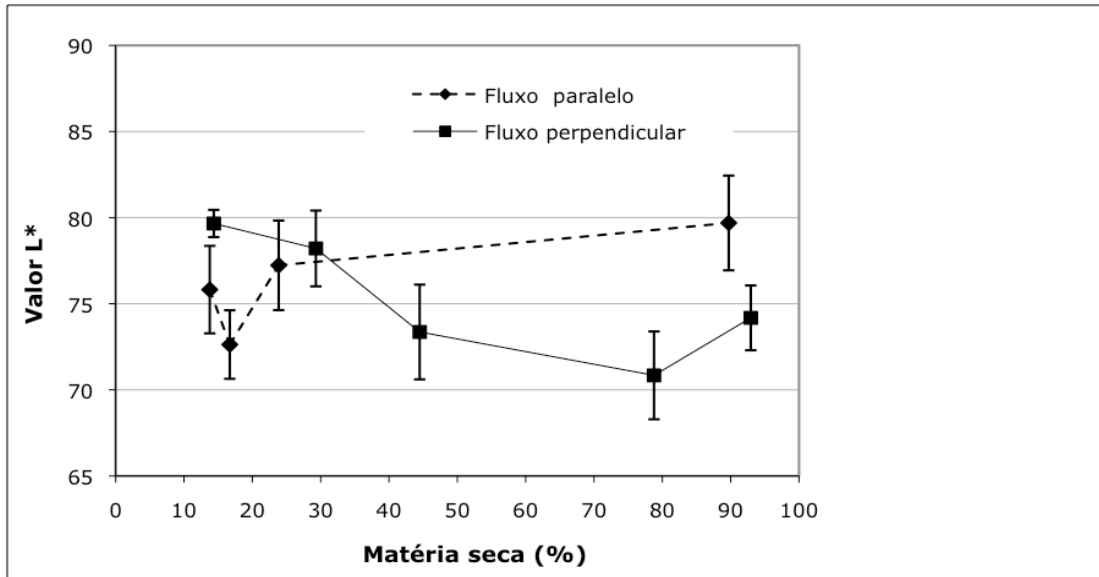


Figura 5 – Luminosidade de cubos de maçã ‘Starking’ com revestimento de alginato, desidratados por fluxo paralelo e por fluxo perpendicular de ar a 40°C.

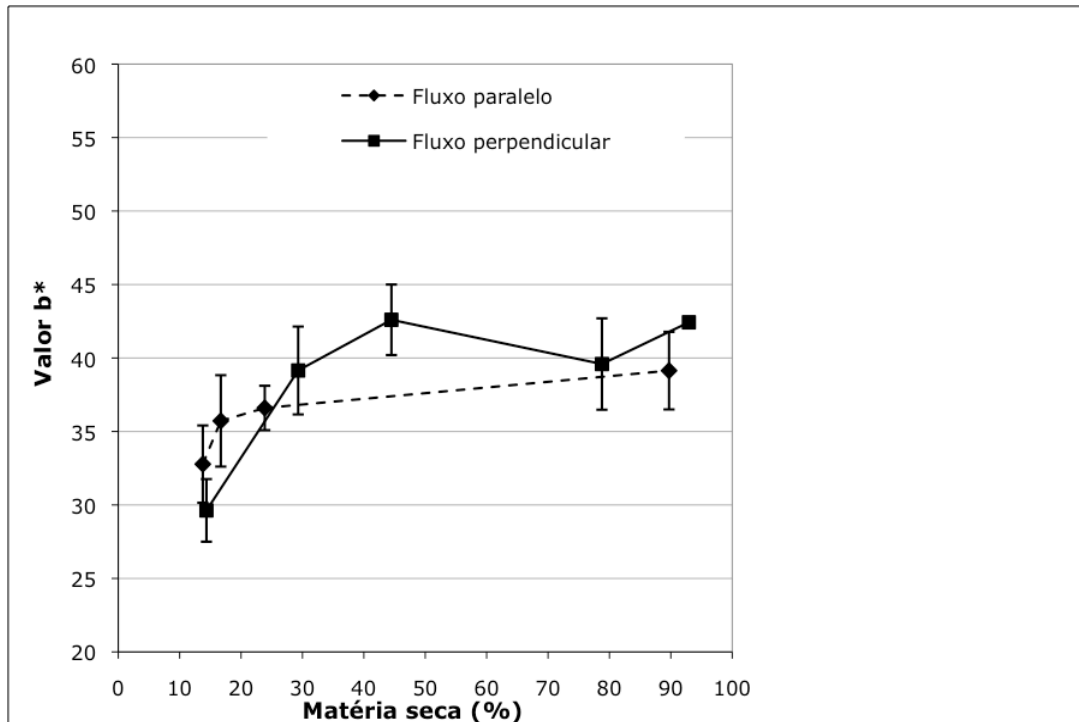


Figura 6 – Parâmetro b* de cubos de maçã ‘Starking’ com revestimento de alginato, desidratados por fluxo paralelo e por fluxo perpendicular de ar a 40°C.

4. CONCLUSÕES

De forma a reduzir o escurecimento enzimático de cubos de maçã ‘Starking’ revestidos com alginato, que ocorre durante o processo de secagem por convecção, é necessário um pré-tratamento térmico da maçã inteira. O revestimento de alginato é eficaz na prevenção da absorção de água.

Agradecimentos: CAS Ribeiro agradece o apoio financeiro da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) (BII/LAB/0016/2008).

Referências

- Dalmadi, I, Rapeanu, G, Van Loey, A, Smout, C, Hendrickx, M (2006) Characterization and inactivation by thermal and pressure processing of strawberry (*Fragaria ananassa*) polyphenol oxidase: a kinetic study. *Journal Food Biochemistry*, 30, 56–76.
- Eidhin, DMN, Murphy, E, O'Beirne, D (2006) Polyphenoloxidase from Apple (*Malus domestica* Borkh. cv Bramley's Seedling): Purification Strategies and Characterization. *Journal of Food Science*, 71, C51-C58.
- Karel, M (1975). Water activity and food preservation. In M Karel, OR Fennema & DB Lund (Eds.), *Principles of Food Science*, Part II. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Lenart, A, Piotrowski, D (2001). Drying characteristics of osmotically dehydrated fruits coated with semipermeable edible films. *Drying Technology*, 19, 849-877.
- McHugh, DJ (2003) "A guide to the seaweed industry, FAO fisheries technical paper 441". Endereço: <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4765E/y4765e00.htm#Contents>. [Dezembro, 15, 2008]
- Olivas, GI, Mattinson, DS, Barbosa-Cánovas, GV (2007) Alginate coatings for preservation of minimally processed 'Gala' apples. *Journal of Food Engineering*, 45, 89-96.
- Rocha, AMCN, Morais, AMMB (2001) Polyphenoloxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed 'Jonagored' apple. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 120-126.
- Rocha, AMCN, Mota, C, Morais, AMMB (2005) Efeito de armazenamento sob vácuo na actividade da PPO e nos compostos fenólicos da cenoura descascada (cv. Nantes) [Effect of the storage under vacuum on PPO activity and phenolic compounds of peeled carrot (cv. Nantes)]. In *Proceedings of 7º Encontro de Química de Alimentos*, April 13-16 (CD-rom), Viseu, Portugal.
- Rojas- Graü, MA, Tapia, MS, Rodriguez, FJ, Carmona, AJ, Martins- Belloso, O (2007) Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut 'Fuji' apples. *Journal of Food Engineering*, 21, 118- 127.
- Whitaker, JR (1972) *Principles of enzymology for the food sciences*, Marcel Dekker, Nova York, 571-577.