

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos



Dissertação

**Caracterização da qualidade de maçãs, Cv. Fuji,
minimamente processadas tratadas com aditivos**

Marines Batalha Moreno

Pelotas, 2013

MARINES BATALHA MORENO

**CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE DE MAÇÃS, CV. FUJI, MINIMAMENTE
PROCESSADAS, TRATADAS COM ADITIVOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de Orientação: Cesar Valmor Rombaldi, Ph.D.

Rufino Fernando Flores Cantillano, Ph.D.

Pelotas, 2013

Banca examinadora:

Ana Paula Antunes Corrêa, Dra.

Marcelo Barbosa Malgarim, Dr.

Valdecir Calor Ferri, Dr.

Rufino Fernando Flores Cantillano, Dr.
(Co-orientador)

Cesar Vamor Rombaldi, Dr.
(Orientador)

A minha filha Marina.

OFEREÇO E DEDICO

“Mantenha seus pensamentos positivos, porque seus pensamentos tornam-se suas palavras. Mantenha suas palavras positivas, porque suas palavras tornam-se suas atitudes. Mantenha suas atitudes positivas, porque suas atitudes tornam-se seus hábitos. Mantenha seus hábitos positivos, porque seus hábitos tornam-se seus valores. Mantenha seus valores positivos, porque seus valores... Tornam-se seu destino.”

Mahatma Gandhi

Agradecimentos

Primeiramente a Deus por me concede esta alegria da realização de um sonho. À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e a Capes pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo estímulo e ensinamentos, em especial ao Dr. César Valmor Rombaldi.

À Embrapa Clima Temperado pela oportunidade na realização de meus experimentos, aos pesquisadores pelos ensinamentos e apoio, em especial ao Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano pela inestimável orientação, confiança e incentivo na realização deste trabalho.

Aos colegas dos Laboratórios de Ciência e Tecnologia de Alimentos e Pós-colheita da Embrapa, pelo companheirismo, amizade e colaboração, em especial Sr. Luiz Fernando Volcan, Jussara Xavier dos Santos e Taísa Bandeira Leite pela incansável paciência comigo.

A todos os meus amigos (as), que apesar da distância me acompanharam nesta jornada, em especial a Lécimary Batalha Moreno, que além de irmã, colaborou com toda sua dedicação, pela força e incentivo em todas as horas em que necessitei. Aos meus pais, Carlinhos e Vanda, que ajudaram a construir a pessoa que sou hoje e direcionaram com afeto e dedicação a minha formação.

À minha segunda família C.E.U., Mariângela e Adriano, que me “adotaram” e me ampararam em todos os momentos da minha vida acadêmica, a minha eterna gratidão.

À todos os meus irmãos de fé, que se dispuseram a me ajudar, que com atenção e paciência me ouviram e auxiliaram em todas as horas em que necessitei.

Á todos que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

Resumo

MORENO, Marínes Batalha. **Caracterização da Qualidade de maçãs, cv. Fuji, minimamente processadas, tratadas com aditivos**, 2013. 73f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O setor de frutas minimamente processadas está em crescimento e por este motivo necessita-se de estudos que determinam qualidade ao produto, já que o método de processamento danifica os tecidos vegetais e acelera as alterações bioquímicas e microbiológicas. Neste experimento se avaliou o efeito do tempo de armazenamento refrigerado das maçãs antes do processamento, assim como aditivos após o processamento mínimo, na qualidade do produto. No experimento utilizaram-se maçãs (*Malus domestica*, Borkh) da cv. 'Fuji'. Foram avaliadas as seguintes características: coloração da polpa (L, a*, b*, H°), firmeza de polpa (FP), acidez total titulável (ATT), teor de fenóis totais, a atividade enzimática da polifenoloxidase (PFO), a capacidade antioxidante (CA), o teor de sólidos solúveis totais (°Brix - SST) e a segurança microbiológica dos produtos minimamente processados. O processamento mínimo foi feito em maçãs in natura armazenadas sob refrigeração a 1°C a 90-95% de umidade relativa (UR) por 20, 78, 138 e 188 dias. Após o processamento, os frutos foram avaliados aos 3, 6, 9 e aos 12 dias de armazenamento a 4°C a 90-95% de UR. Como tratamentos no processo, testou-se água destilada (T1), 0,5% (m/v) cloreto de L-cisteína (T2), 1% (m/v) ácido L-ascórbico (T3), 0,5% (m/v) cloreto de L-cisteína + 1% (m/v) cloreto de cálcio (T4) e 1% (m/v) ácido L-ascórbico + 1% (m/v) cloreto de cálcio (T5). O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, em esquema trifatorial, com três repetições. O fator A foi composto por períodos de armazenamento em câmara fria, o fator B foi composto por épocas de análise, simulando vida de prateleira e, o fator C foi composto por tratamentos químicos. O armazenamento da maçã *in natura* por até 78 dias para cv. Fuji proporcionam um produto minimamente processado menos escurecido (menor valor L*), mantendo o teor de SS. Para ATT houve uma queda na acidez, sendo mantida até 78 dias. O menor escurecimento é caracterizado pelo maior valor de L*, menor valor a* e b*, e conseqüentemente maior ângulo hue foi proporcionado pelos tratamentos T2 e T4, que contêm L-cisteína. Independentemente do período de armazenamento a maçã *in natura*, os tratamentos T2, T3, T4 e T5 foram eficientes na preservação do teor de compostos fenólicos totais e da capacidade antioxidante. No entanto, à medida que o período de armazenamento dos frutos *in natura* foi prolongado, maior a suscetibilidade ao escurecimento após o processamento mínimo. Os resultados de análises microbiológicas, conforme os parâmetros da Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Governo Brasileiro (RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001), permitiram classificar os produtos minimamente processados como toxicologicamente seguros, no entanto com relação aos coliformes totais, fungos e leveduras apontou-se um problema microbiológico.

Palavras Chave: *Malus domestica*. Processamento mínimo. Armazenamento. Escurecimento enzimático.

Abstract

MORENO, Marines Batalha. **Quality evaluation of apples cv. Fuji, minimally processed, treated with additives, 2013. 73F. Thesis (Master degree)** - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The minimally processed fruit sector is developing and for this reason it needs studies that helps to determine the product quality, since the processing methods damages the plant tissues and accelerates the changes of the natural characteristics of the product. This experiment assessed the effect of cold storage in apples before processing, as well as additives after processing, at the quality of the product. In the experiment it was used apples (*Malus domestica*, Borkh) cv. 'Fuji' and were evaluated the following characteristics: flesh color (L, a*, b*, H°), firmness (FP) , titratable acidity (TTA) , total phenols , the enzymatic activity of polyphenol oxidase (PFO), antioxidant capacity (AC), total soluble solids (°Brix - TSS) and the microbiological safety of minimally processed products. Minimal processing occurred when storing fresh apples to 1° C at 90-95% relative humidity (RH), 20, 78, 138 and 188 days. After processing, the fruits were evaluated at 3, 6, 9 and 12 days of storage at 4 ° C and 90-95% RH. As Procedure treatments, it was tested distilled water (T1), 0.5%(w/v) L-cysteine chloride (T2); 1%(w/v) L-ascorbic acid (T3), 0.5% (w/v) L-cysteine chloride + 1% (w/v) calcium chloride (T4), 1% (m/v) L-ascorbic acid + 1% (m/v) calcium chloride (T5). The experimental design was completely randomized, in a trifactorial scheme, with three replications. The A factor was composed of periods of cold storage, the B factor was composed of periods of analysis, which simulates shelf life, and the C factor was composed of chemical treatments. The storage of fresh apples for up to 78 days for cv. Fuji provides a minimally processed product less darkened (lower L* value), while it kept the content of TSS. For the TTA characteristic there was a fall in the acidity, being kept until 78 days. The lower dimming is characterized by the highest value of L*, lowest values of a* and b*, and consequently higher hue angle, being the treatments T2 and T4, which was treated with L-cysteine chloride. Regardless of the storage period of fresh apple, treatments T2, T3, T4 and T5 were effective in preserving the total phenolic compounds content and their antioxidant capacity. The microbiological analysis results, as the parameters of National Agency of Sanitary Surveillance of the Brazilian Government (RDC No.12, of January 2, 2001), allowed us to classify the minimally processed products obtained in this study as toxicologically safe, however the total coliforms, fungi and yeast analysis pointed up a microbiologic issue.

Key words: *Malus domestica*. Minimal processing. Storage. Enzymatic browning.

Lista de Figuras

- Figura 1- Parâmetros de coloração L* (A e B), a* (C e D), b* (E e F) e Hue (G e H) de maçãs cv. Fuji submetidas a períodos de armazenamento pré-processamento (20, 78, 138 e 188 dias) e pós-processamento (3, 6, 9 e 12 dias), após minimamente processadas e tratadas com: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).42
- Figura 2 - Sólidos solúveis (°Brix - A), firmeza de polpa (N - B), acidez titulável (% de ácido málico - C) e polifenoloxidase (PPO - Absorbância g⁻¹ de MF minuto⁻¹ - D), de maçãs cv. Fuji submetidas a períodos de armazenamento pré-processamento (20, 78, 138 e 188 dias) e pós-processamento (3, 6, 9 e 12 dias), após minimamente processadas e tratadas com: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).46
- Figura 3 - Fenóis totais (mg EAC 100g⁻¹ MF - A e B) e capacidade antioxidante (µg TEAC g⁻¹ MF - C e D) de maçãs cv. Fuji submetidas a períodos de armazenamento pré-processamento (20, 78, 138 e 188 dias) e pós-processamento (3, 6, 9 e 12 dias), após minimamente processadas e tratadas com: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).49

Lista de Tabelas

- Tabela 1 - Coliformes totais, *enterobactérias* e fungos (UFC g⁻¹) de maçãs cv. Fuji submetidas a períodos de armazenamento em câmara fria (20, 78, 138 e 188 dias) e épocas de análise, simulando vida de prateleira (3 e 6 dias), após minimamente processadas e tratadas com: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13.....53
- Tabela 2 - Coeficientes de correlação de Pearson e valores de *p* entre fenóis totais (FT) e capacidade antioxidante (DPPH) de maçãs cv. Fuji minimamente processadas, considerando a interação entre os períodos de armazenamento em câmara fria (20, 78, 138 e 188 dias) e os tratamentos: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13.....54

Sumário

1. Introdução e Justificativa.....	13
1.1 Hipótese.....	14
1.2 Objetivo.....	14
2. Revisão Bibliográfica.....	14
2.1 Maçã	14
2.1.1 Maçã cv. ‘Fuji’	17
2.2 Armazenamento.....	18
2.3 Produtos Minimamente Processados.....	20
2.4 Escurecimento Enzimático	21
2.5 Aditivos	23
2.6 Características Físico-Químicas	24
2.6.1 Coloração da Polpa.....	24
2.6.2 Firmeza da Polpa	25
2.6.3 Acidez Total Titulável.....	26
2.6.4 Sólidos Solúveis Totais	27
2.6.5 Enzimas Polifenoloxidasas.....	27
2.6.6 Compostos Fenólicos Totais.....	28
2.6.7 Capacidade Antioxidante.....	29
2.7 Avaliações Microbiológicas.....	30
3 Artigo 1: Caracterização da Qualidade de Maçã cv. ‘Fuji’ Minimamente Processada Tratada com Aditivos.....	31
3.1 Introdução.....	32
3.2 Material e Métodos.....	33
3.2.1 Material.....	33
3.2.2 Processamento.....	34
3.2.3 Acondicionamento.....	34
3.2.4 Análises Físico-químicas.....	35
3.2.5 Análises Microbiológicas.....	36
3.2.6 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas.....	37
3.3 Resultados e Discursões.....	38
3.3.1 Análises Físico-químicas.....	38
3.3.2 Análises Microbiológicas.....	49

3.3.3 Análise de Correlação.....	52
3.4 Conclusão.....	57
3.5 Referências Bibliográficas.....	57
4 Referências Bibliográficas Gerais.....	62

A demanda por produtos naturais, saudáveis e saborosos cresce cada vez mais. Grande atenção tem sido dada aos processos que preservam a estrutura física e as características sensoriais dos produtos, principalmente para ampliar o mercado dos produtos de pronto uso de frutos (OMS-LIU *et al.*, 2010).

Neste contexto, aumenta a perspectiva favorável para a expansão de produtos minimamente processados (PMP), como alternativa para produzir produtos alimentícios atrativos e de pronto uso. Esse processamento pode se contribuir em componente de competitividade no setor, garantindo às empresas novas possibilidade de colocação de produtos no mercado, agregando valor à matéria-prima (ARRUDA, 2010).

Uma série de etapas caracteriza o processamento mínimo, como é o caso da sanitização, do descascamento, do corte e/ ou abrasões e embalagens, que promovem uma maior conveniência de consumo de frutos e hortaliças, às expensas da redução de sua vida útil pós-colheita. O corte dos tecidos ocasiona a perda da integridade celular na superfície cortada, com consequente descompartimentalização das enzimas e seus substratos, promovendo o aumento da atividade enzimática e o escurecimento, uma das alterações mais facilmente perceptíveis (ROLLE; CHISM, 1987; GORNY *et al.*, 1999). Além disso, ocorre o amaciamento dos tecidos, o aumento da taxa respiratória e da síntese de etileno (BRECHT, 1995), a síntese de compostos de fenólicos (KE; SALTVEIT, 1989), o aumento da perda d'água, e maior suscetibilidade ao crescimento de micro-organismos (SCHLIMME, 1995).

Para minimizar os danos causados no processamento mínimo, vários aditivos são indicados, principalmente para a prevenção do escurecimento enzimático e do amolecimento dos tecidos, tais como cloreto de L-cisteína, ácido L-ascórbico e o cloreto de cálcio. O cloreto de L-cisteína tem sido utilizado com eficácia na conservação de bananas (MELO; VILAS-BOAS, 2006), pêssegos (SILVA, 2013; COSTA *et al.*, 2011), maçãs e batatas (MOLNAR-PEARL; FRIEDMAN, 1990; ROCCULI *et al.*, 2007). O ácido ascórbico tem sua ação redutora e contribuição nutricional (vitamina C), e é utilizado com eficácia para evitar o escurecimento enzimático de batatas (BUTA; MOLINE, 2001; ROCCULI *et al.*, 2007), abacaxis (GONZÁLEZ-AGUILAR *et al.*, 2004), pêras (GORNY *et al.*, 2002), entre outros. No entanto, faltam estudos que visem elucidar o melhor aditivo a ser

utilizado no PMP de maçãs. Deste modo, este estudo visa avaliar as características físico-químicas e microbiológicas de maçãs PMP sob a aplicação de diferentes antioxidantes em maçãs coletadas em diferentes períodos de armazenamento refrigerado. Esse trabalho vem contribuir com o setor de produção de maçãs, com vista à diversificação de produtos derivados, além de proporcionar ao consumidor produtos convenientes ao consumo, e semelhantes ao fruto *in natura*.

1.1 Hipótese

À medida que se prolonga o período de armazenamento refrigerado das maçãs *in natura*, a suscetibilidade ao escurecimento e amolecimento aumenta após o processamento mínimo, demandando o uso de antioxidantes para evitar o problema.

1.2 Objetivo

Avaliar a interferência do tempo de armazenamento refrigerado na qualidade das maçãs minimamente processadas, e estudar o efeito de antioxidantes (cloreto de l-cisteína, ácido l-ascórbico) e molécula protetora da parede celular (cloreto de cálcio) sobre a vida de prateleira de maçãs minimamente processadas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Maçã

A maçã é o fruto pomáceo da macieira, pertencente ao reino Plantae, da família Rosaceae e ao gênero *Malus domestica*, Borkh. (BENDER, 1986). É uma frutífera típica de clima temperado, com exigência de frio para o adequado crescimento vegetativo e desenvolvimento reprodutivo sexuado, apresentando-se apta para produzir satisfatoriamente em condições de inverno brando a rigoroso. A árvore pode chegar a 10 metros de altura; adapta-se a quase todos os tipos de solo, preferindo sílico-argiloso e argilo-silicoso, profundo e drenado (CÓRDOVA, 2006); possui tronco de casca parda, lisa e copa arredondada. As flores da macieira são brancas ou róseas, e aromáticas. Seus frutos são globosos com uma profunda depressão no ponto de inserção da haste, que o prende aos ramos apresentam

coloração vermelha ou verde, pode apresentar pequenas manchas esverdeadas ou amareladas (SILVA, 1996).

Não se sabe, ao certo, qual ou quais foram as espécies silvestres que deram origem à macieira contemporânea. As hipóteses mais prováveis apontam para *Malus sylvestris*, originária da Europa, a *Malus prunifolia*, originária da Sibéria e do norte da China, e/ou a *Malus pumila*, originária do Cáucaso e de parte da Rússia, ou o conjunto destas (ABPM, 2010). Acredita-se que essa espécie seja originária da região do Sul do Cáucaso. Alguns indícios encontrados em espécies carbonizadas, que datam de aproximadamente 600 a.C. e em peças arqueológicas do período neolítico, onde suas sementes aparecem fossilizadas, demonstram que o fruto existe há muito tempo, provavelmente desde períodos pré históricos. Em 100 a.C., já eram listadas diversas variedades de maçã (CÓRDOVA, 2006).

A pomicultura brasileira iniciou em 1926, no município de Valinhos no estado de São Paulo, mas, no entanto, o cultivo da macieira em escala comercial foi iniciado a partir da década de 60 (BORGES JUNIOR, 1998), tendo seu desenvolvimento comercial no início da década de 70, especialmente no Estado de Santa Catarina, impulsionado pelo pioneirismo de alguns produtores e pelo apoio decisivo do governo do Estado, posteriormente levada ao Paraná e ao Rio Grande do Sul (BONETI *et al.*, 1999). Segundo Camilo e Denardi (2006), cultivares tradicionais, tais como Golden Delicious e Red Delicious, que eram plantadas na Europa e na América do Norte, foram substituídas por novas cultivares, como Gala, Fuji, Jonagold e Braeburn, na década de 80. Essa tendência resultou da preferência dos consumidores por essas cultivares, levando à maior valorização no mercado internacional. Os Estados da região Sul são os principais produtores de maçãs, pois apresentam a quantidade de horas de frio necessária para maior produtividade e melhor qualidade do fruto (tamanho, coloração, sabor). As cultivares Gala e Fuji e seus clones constituem, na atualidade, cerca de 95 % da produção brasileira, e fazem parte do conjunto de maçãs mais importantes em termos mundiais (WOSIACKI, *et al.*, 2002).

Segundo a *Food and Agriculture Organization of The United Nations* (FAO), o Brasil, por sua vez, consolida-se como terceiro do mundo na produção de frutas, com uma produção que supera os 40 milhões de toneladas, atrás apenas da China e da Índia, com um consumo de 9,13 Kg/hab/ano. No Brasil o consumo de maçãs apresenta um rendimento médio de 34,76 Kg/ha/ano (IBGE, 2013). A maçã é o

terceira fruto mais produzido no mundo, perdendo apenas para a banana e a melancia (FAO, 2012). Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a produção de maçã no Brasil deve apresentar aumentos expressivos nos próximos anos, com aproximadamente 2,9% de crescimento ao ano (MAPA, 2012). No Brasil, o Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias (GCEA) e Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) demonstram em um levantamento sistemático da produção de maçãs e de seus derivados no país com um comparativo entre as safras de 2011 (S1) e 2012 (S2), em área plantada (ha) S1 37.784 e S2 38.506, produção de frutos (ton.) S1 1.364.953 e S2 1.278.297 e rendimento médio de frutos por ha S1 36.125 e S2 33.197, tendo assim um aumento na área plantada, porém com uma menor produção e rendimento médio (IBGE, 2012). O cultivo da macieira no país se concentra na Região Sul. Santa Catarina é o maior produtor, com aproximadamente 51% do total da área plantada, caracterizado por 90% de agricultores com até 4,5 hectares (ha), tendo um total de 2.497 pomicultores, distribuídos em 17.853 ha (AMAP, 2013). São Joaquim é o município maior produtor de maçãs do país com 7.725 ha de área plantada, seguido de Fraiburgo (3.735,5 ha) e Bom Jardim da Serra (1.518 ha) (EPAGRI, 2013). Localizado a 1400 m de altitude, no Planalto Catarinense, São Joaquim apresenta condições climáticas adequadas ao cultivo de macieiras, pois permite naturalmente a ocorrência da quebra de dormência das gemas (USHIROZAWA, 1978).

O Rio Grande do Sul (RS) é o segundo maior estado produtor, com aproximadamente 48% do total da área plantada, 564 pomicultores, cultivando uma área total de 14.808 hectares, uma média de 26 hectares de macieiras por produtor (AGAPOMI, 2013). O município de Vacaria, com uma área de 7.091,47 ha, é o maior produtor do RS. Mas, o cultivo da macieira também é expressivo nos municípios de Caxias do Sul, Bom Jesus, Muitos Capões, Monte Alegre dos Campos e São Francisco de Paula (AGAPOMI, 2012). A região de Vacaria no RS é preferencial para o cultivo da maçã, levando em consideração o número de horas de frio/ano ($\pm 600h$) com temperatura abaixo de 7,2°C, acumuladas de maio a agosto (MOTA; ALVES, 1990).

No estado do Paraná, a pomicultura ocupa uma área de 1.800 ha, com uma expectativa de safra de 47,8 mil toneladas em 2013. São Paulo, Minas Gerais e Bahia figuram, pelo IBGE (2013), com 105, 157 e 60 hectares de pomares de macieiras, respectivamente.

Observando os dados da Associação Gaúcha Produtores de Maçã (AGAPOMI), pode-se verificar que a cv. Gala tem (172,26 ha) maior área cultivada que a cv. Fuji (132,1 ha) com macieiras no RS; na safra de 2012 o RS contou com 14.808,49 ha de área plantada de macieira, sendo que 48% desta localizada no município de Vacaria. A produção de maçãs no RS foi de 483.009 toneladas, sendo que 52% foi produzido em Vacaria. A produção foi armazenada em câmaras frias com total de 373.649 toneladas, sendo 63% dos frutos armazenados em Vacaria (AGAPOMI, 2013). A maioria das cultivares de macieira necessita de baixas temperaturas para a quebra de dormência ($>600h$ e $T \leq 7,2^{\circ}C$) para estabelecer um novo ciclo vegetativo e produtivo (PETRI *et al.*, 2011). Apesar de um inverno satisfatório em 2011 no Sul do Brasil, a geada tardia em setembro, mais a falta de água no mês de novembro, em dois ciclos sucessivos, e com temperaturas altas agravando o déficit hídrico da planta, dificultou o desenvolvimento normal do fruto, gerando maçãs com menor calibre (AGAPOMI, 2013). Embora com uma produção expressiva, mas com desuniformidade de tamanho dos frutos há necessidade de elaborar estratégias para vender este fruto. As soluções mercadológicas serão necessárias para escoar a produção de frutos com o calibre menor de forma remuneradora para o produtor, dificuldades estas que o setor de pomicultura vem enfrentando (PEREIRA, 2008; KVITSCHALL; DENARDI, 2011).

2.1.2 Maçã cv. Fuji

A macieira cv. 'Fuji' é de origem japonesa, obtida por meio do cruzamento de 'Ralls Janet' com a 'Delicious' (FILHO-CETNARSKI, *et al.* 2008). Em 1962 foi realizado um cruzamento onde surgiu a 'Fujia' em referência a cidade de Fujisaki no Japão (YOSHIDA *et al.*, 1998). É uma cultivar importante no Japão, China, Coréia, Austrália, Espanha, Brasil, Argentina e Chile (HAMPSON; KEMP, 2003; IGLESIAS *et al.*, 2009). Segundo a Associação Brasileira de Produtores de Maçã a epiderme da cv. 'Fuji' é rajada, com faixas vermelhas e fundo verde-amarelado, lustrosa, lisa. Com cavidade peduncular média, pouco profunda, cálice grande, fechado e pedúnculo médio. A polpa é aromática, amarelo-clara, firme, quebradiça, muito suculenta, de sabor doce, com boa acidez e sabor excelente (CAMILO; DENARDI, 2006). A maturação é tardia, estendendo-se até a primeira quinzena de maio (ABPM, 2010).

Seus frutos apresentam o problema de desuniformidade de tamanho (de médio a grande) e de forma (redondo-oblatos ou oblongos), e de deficiência de coloração da epiderme, quando plantada nas regiões mais quentes do Brasil. Entretanto, o fruto é bem aceito por ter sabor adocicado, polpa suculenta e de textura crocante. As macieiras desta cultivar requerem, em horas de frio, de 600 a 800 horas, o que é considerado elevado (FIORAVANÇO *et al.*, 2010). Os frutos se conservam muito bem em câmara fria (6/7 meses), e em atmosfera controlada chega a 9/10 meses de conservação (BERNARDI *et al.*, 2004).

Como a planta é vigorosa, necessita mais de desbaste os ramos serem conduzidos mais inclinados, horizontalmente, do que os da cv. Gala ou da cv. Golden Delicious. O raleio é feito de modo a deixar na planta o máximo possível de frutos bem formados e com bom crescimento. As plantas tendem à alternância de produção. Essa cultivar possui mais de uma centena de clones com características diferentes quanto à adaptação climática, época de colheita, qualidade do fruto e coloração da epiderme (KOMATSU, 1998; HAMPSON; KEMP, 2003). Os principais clones cultivados no Rio Grande do Sul são 'Fuji Precoce', 'Fuji Suprema', 'Fuji Select' e 'Mishima' (FIORAVANÇO *et al.*, 2010). O estágio de maturação, "ideal" para a sua colheita deve conter as seguintes características: resistência da polpa (N) aproximadamente 84,5162 N; o teor de sólidos solúveis superior a 12°Brix; e, a acidez titulável deve estar entre 3,7 a 5,2 cmol/L (EPAGRI, 2013).

2.2 Armazenamento

A colheita da maçã é realizada, nas condições climáticas brasileiras, nos meses de março e abril. Para a regulação da oferta de frutos ao mercado durante o ano, bem como a exigência por frutos de qualidade, faz-se necessário o uso do armazenamento em ambiente com atmosfera refrigerada, modificada, controlada ou controlada dinâmica. O controle da temperatura é o fator primordial para a conservação pós-colheita de frutos, sendo que, quando controlada inadequadamente, pode causar grandes perdas devido ao congelamento ou às desordens fisiológicas como degenerescência da polpa (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A temperatura controla a velocidade com que ocorrem as reações bioquímicas na célula, dentre elas a respiração e a síntese de etileno (hormônio do amadurecimento), bem como o desenvolvimento de microrganismos (ASIF *et al.*, 2009). Sendo assim, o uso de baixas temperaturas no armazenamento das maçãs diminui a velocidade do metabolismo, contribuindo para manter as características físico-químicas, a qualidade sensorial e a segurança dos frutos.

O tempo de armazenamento é determinado pelo estágio de maturação das maçãs no momento da colheita, e pelas condições de armazenamento. No Brasil, 56% das maçãs são armazenadas em atmosfera controlada e o restante (44%) é armazenado em atmosfera refrigerada (ABPM, 2013). A atmosfera controlada consiste em uma técnica que vem sendo utilizada com bastante sucesso em algumas frutíferas, principalmente em maçãs. Baseia-se na manutenção dos frutos em uma câmara fria com uma proporção definida de O₂ e CO₂, aliada à baixa temperatura. O armazenamento refrigerado é um sistema mais comumente realizado para o prolongamento da vida útil dos frutos, principalmente em clima temperado. Baseia-se na combinação de baixas temperaturas, geralmente de -1 a 4°C, com alta umidade relativa do ar (UR), geralmente superior a 85% (FACHINELLO, 1996).

Segundo Brackmann *et al.*, (2004) condições ideais para o armazenamento refrigerado de maçãs, cv. 'Gala', é 0,5°C de temperatura, com 94 a 96% de UR por um período de armazenamento de 4 a 5 meses, e para a cv. 'Fuji' é entorno a 0°C de temperatura, com 92 a 96% de UR por um período de armazenamento de 7 meses. É importante manter estas condições ideais de armazenamento para que não aconteça um desequilíbrio e resulte em alterações físicas e metabólicas indesejáveis causando injúrias nos frutos (AWAD, 1993).

O armazenamento de produtos derivados de maçã, no caso minimamente processados, tem como a finalidade prolongar o tempo de vida útil e de manter uma melhor qualidade para o consumidor, sendo estes produtos geralmente são mais perecíveis que os que lhes deram origem. O armazenamento dos produtos minimamente processado de maçã deve ser em condições de refrigeração, sendo este fator importante no retardamento da perda de qualidade, na alteração da composição da atmosfera modificada ao redor do produto, na perda das características nutricionais, na diminuição da contaminação microbológica, na manutenção da qualidade sensorial dos mesmos (BRECHT, 1995). Portanto, é

essencial que estes produtos sejam mantidos em refrigeração, a fim de proporcionar a manutenção e o prolongamento do tempo de estocagem, minimizando as injúrias provocadas pelo processamento (BRECHT *et al.*, 2003; SARANTÓPOULUS *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2003).

Apesar da utilização de embalagens sob atmosfera modificada, visando aumentar a vida útil destes produtos, elas não superam os efeitos negativos causados pelos danos mecânicos e ressaltando desta forma a importância da utilização de baixas temperaturas durante o processamento e armazenamento de vegetais minimamente processados (ARRUDA *et al.*, 2003).

2.3 Produtos Minimamente Processados

Os hábitos alimentares são, sem dúvida, os mais diversos nas diferentes regiões do Brasil e do mundo. Porém, algumas tendências no âmbito de produtos alimentícios são mundiais, como por exemplo, o crescente consumo de vegetais minimamente processados. Produtos minimamente processados (PMP) são definidos como “qualquer fruto ou hortaliça, que foi alterada fisicamente a partir de sua forma original, embora mantenha o seu estado fresco” (IFPA, 2013). No Brasil, a produção de PMP surgiu na década de 90, sendo que na indústria americana essa tecnologia já estava no seu auge, na década de 80. Desde então, se nota crescimento tanto na pesquisa quanto na comercialização destes produtos (JACOMINO *et al.*, 2004; JANG; MOON, 2011).

A conveniência e a praticidade na hora de comprar e consumir frutos têm levado consumidores a demandar produtos prontos para o consumo ou que exigem pouco ou nenhum preparo para serem consumidos com segurança, com qualidade e contendo apenas ingredientes próximo aos naturais tem aumentado constantemente devido aos novos estilos de vida dos consumidores. A demanda pelo consumo de PMP e alimentos *in natura* tem crescido na ordem de 2,5 a 5,0% ao ano (ROMBALDI *et al.*, 2007).

É nesse contexto que se inserem os frutos minimamente processados, que cada vez mais têm ocupado espaço nas gôndolas de supermercados e de lojas de conveniência. O aumento na produção pode ser explicado pelo estilo de vida dos consumidores, juntamente com a opção pelo consumo de produtos naturais, devido aos benefícios que estes trazem à saúde (OMS-OLIU *et al.*, 2010).

O corte e/ou abrasões nos tecidos descompartmentaliza as células, favorecendo a atividade de enzimas que causam o escurecimento e o amaciamento dos tecidos. O processamento mínimo torna os frutos e hortaliças mais perecíveis do que quando íntegras, pois estas passam a ter respostas fisiológicas semelhantes àquelas dos produtos que sofreram injúrias, isto é, aumento da respiração e produção de etileno, escurecimento enzimático, perda de umidade, entre outros. Além disso, a retirada de tecidos protetores e a liberação de nutrientes em função do corte favorecem o desenvolvimento microbiano nesses produtos (CHITARRA, 1998; WATADA *et al.*, 1990; TORNUK *et al.*, 2011).

Dessa forma, algumas tecnologias de preservação estão sendo pesquisadas a fim de assegurar a qualidade e o aumento da vida útil de produtos minimamente processados, tais como a atmosfera modificada, tratamentos químicos e revestimentos comestíveis. O armazenamento refrigerado e o uso de embalagem adequada são indispensáveis para a manutenção da qualidade desses produtos (MORETTI, 2007; PILON, 2011). O principal problema dos PMP é o escurecimento enzimático afetando a cor da superfície do fruto, que é um importante atributo de qualidade, já que os consumidores costumam julgar a qualidade de frutos minimamente processados com base na sua aparência (JANG; MOON, 2011).

O mercado de minimamente processados continuará em crescimento se os consumidores acreditarem na segurança e na qualidade desses alimentos. Alguns desafios para a comercialização desses produtos devem ser vencidos nos países em desenvolvimento, como a preservação da qualidade na cadeia de comercialização, a manutenção da cadeia do frio e logística adequada, adequação de equipamentos e disponibilidade de tecnologias para implantação de indústrias de processamento, e programas de certificação que garantam a qualidade e a segurança dos produtos, fundamentais para atender aos mercados de exportação (ROLLE, 2010).

2.4 Escurecimento Enzimático

O escurecimento enzimático em frutos e hortaliças minimamente processadas é na maioria das vezes indesejável sendo responsável pela perda da qualidade sensorial e nutricional do produto (BRANDELLI; LOPES, 2005; JANG; MOON, 2011). Estes produtos deterioram-se rapidamente, perdendo qualidade,

especialmente cor e textura, como resultado da liberação de enzimas endógenas, aumento da taxa de respiração e crescimento microbiano, levando também a uma redução da vida útil do mesmo (WILEY, 1997; RAHMAN *et al.*, 2011). As polifenoloxidasas (PFOs) e seus substratos fenólicos estão localizados em diferentes compartimentos celulares (peroxissomos e vacúolos), respectivamente (DIXON; PAIVA, 1995). As alterações indesejáveis no fruto são aceleradas por danos mecânicos às células, causados pelas operações de descasque e/ou corte o que permite o extravazamento celular colocando em as enzimas em contato com o substrato (DURIGAN; CASSARO, 2000).

O escurecimento ocorre pela oxidação de compostos fenólicos catalisada por PFOs, com sua subsequente polimerização por reações (ROBERT *et al.*, 1995). Essa oxidação dos compostos fenólicos se dá em função da captura de elétrons por dois átomos de cobre que se encontram no sítio ativo da enzima, havendo o consumo de oxigênio durante o processo (MAZZAFERA *et al.*, 2002). A primeira reação corresponde à hidroxilação de monofenóis formando orto-difenóis e a segunda à dehidrogenação de orto-difenóis formando orto-quinonas que posteriormente polimerizam para produzir pigmentos escuros indesejáveis, conhecidos como melaninas (CRUMIÉRE, 2000). Sendo importante salientar que depois de formadas as reações subsequentes ocorrem espontaneamente, não dependendo mais da enzima e nem do oxigênio (ARAÚJO, 2004; GOMES *et al.*, 2001). A atividade da PFO pode variar em função da variedade, das condições de cultivo e do estágio de maturação, sendo que a atividade da PFO é menor em frutos ou vegetais não amadurecidos (GOMES *et al.*, 2001; ARAÚJO, 2004; FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002).

O controle do escurecimento enzimático é um dos principais fatores que determinam a qualidade em frutos e hortaliças minimamente processados (GORNÝ *et al.*, 1999). A prevenção da oxidação em tecidos vegetais pode se dar através de processos físicos ou químicos. Os processos físicos de conservação dos alimentos, como desidratação, armazenamento a baixas temperaturas e tratamentos térmicos, apesar de serem os mais adotados, possuem uma série de limitações. Outras possibilidades consistem em retirar o oxigênio do meio e controlar a luminosidade utilizando embalagens adequadas, a vácuo e não-transparentes e/ou utilização de conservantes (antioxidantes). Os processos químicos de conservação com

acidulantes e agentes redutores são os métodos mais efetivos no controle do escurecimento enzimático.

2.5 Agentes Coadjuvantes

A complexidade do processamento de alimentos associada à necessidade de aumentar o período de armazenamento torna o produto vulnerável à deterioração oxidativa. Portanto, é necessária a utilização de substâncias capazes de oferecer proteção contra oxidação. Dentre os métodos mais efetivos para o controle do escurecimento enzimático, estão os tratamentos com substâncias químicas que atuam em prolongar a vida útil de prateleira dos PMP (RICHARD-FORGET *et al.*, 1992). O mais comum para controlar o escurecimento enzimático e não enzimático é o uso de sulfito em alguma de suas formas (dióxido de enxofre, metabissulfito de sódio ou potássio e bissulfito de sódio ou potássio) (SAPERS, 1993). Entretanto, devido aos efeitos adversos aos seres humanos, a Agência Food and Drugs Administration (FDA, 2013), proibiu, em 1986, o uso do sulfito e derivados nos E.U.A. É evidente que isto terá reflexos no Brasil onde ainda se utiliza esses produtos, considerando as restrições impostas a produtos importados pelos E.U.A., que tenham na sua composição a presença desta substância química. Dentre outras substâncias químicas que previnem o escurecimento enzimático e aumentam a vida de prateleira do PMP estão em estudo o cloreto de L-cisteína, ácido L-ascórbico e cloreto de cálcio que podem ser utilizadas em combinação ou separadamente em diversos produtos.

A cisteína é um aminoácido com ação redutora, que contém um grupo tiol, seu poder de inibição do escurecimento varia de acordo com a razão de concentração cisteína/compostos fenólicos (RICHARD-FORGET *et al.*, 1992). Este produto tem sido utilizado com eficácia na conservação de banana (MELO; VILAS-BOAS, 2006, 2007), pêssegos (SILVA, 2013; COSTA *et al.*, 2011), maçãs e batatas (MOLNAR-PEARL; FRIEDMAN, 1990; ROCCULI *et al.*, 2007). Três diferentes mecanismos de atuação de cisteína são propostos: redução das o-quinonas a o-dihidroxifenóis (KAHN, 1985); inibição direta da atividade da polifenoloxidase (DUDLEY; HOTCHKISS, 1989) e reação com o-quinonas dando origem a compostos incolores cisteína-quinona, inibidores competitivos da polifenoloxidase (RICHARD-FORGET *et al.*, 1992).

O ácido ascórbico é reconhecido por sua ação redutora inibindo o escurecimento enzimático, e pela contribuição nutricional (vitamina C). Este ácido é o principal antioxidante para o uso em frutos e hortaliças minimamente processados (WILEY, 1994). Ele atua sequestrando o cobre, cofator enzimático da polifenoloxidase, e também reduzindo quinonas em fenóis, antes de formarem pigmentos escuros (SAPERS; MILLER, 1998). O ácido ascórbico tem sido utilizado com eficácia para evitar o escurecimento enzimático de batatas (BUTA; MOLINE, 2001; ROCCULI *et al.*, 2007), abacaxis (GONZÁLEZ-AGUILAR *et al.*, 2004), pêras (GORNÝ *et al.*, 2002), entre outros.

Os agentes quelantes não são antioxidantes, todavia desempenham um importante papel na estabilização de alimentos (MELO *et al.*, 2009). O íon cálcio é um agente quelante, amplamente empregado na conservação de frutos e hortaliças pós-colheita, torna firmes as células dos tecidos dos frutos e hortaliças por reagir com o ácido pécico para formar pectato de cálcio (MELO *et al.*, 2009). Por essas propriedades o cloreto de cálcio controla o amaciamento que em PMP torna-se acelerado. Segundo Araújo *et al.*, (2010) é por causa das modificações de seus componentes estruturais da parede celular, devido à ação de enzimas hidrolíticas (celulares e pectinases), que ocorre o amaciamento dos tecidos.

O cloreto de cálcio tem mostrado efeitos positivos quando aplicado por imersão em frutos e hortaliças, minimamente processados. Melo *et al.* (2009) observaram efeito positivo do cálcio na manutenção da firmeza e na prevenção do escurecimento de fatias de pêssegos. O cálcio mostrou-se também eficaz na retenção da firmeza de bananas das cultivares Maçã (MELO; VILAS-BOAS, 2007) e 'Grand Naine' (VILAS-BOAS; KADER, 2006), minimamente processadas.

2.6 Características Físico-Químicas

2.6.1 Coloração da Polpa

A cor faz parte dos aspectos físicos; ela é uma das características que mais desperta atenção na comercialização (KHAZAEI *et al.*, 2011). Os testes para avaliação da coloração obedecem à padronização de reprodução de cores proposta pela Associação Internacional da Cor (AIC, International Colour Association) em 1967, Washington, DC, Estados Unidos, na 16ª Sessão da CIE (Commission

Internationale de l'Éclairage). Essa comissão adaptou um método colorimétrico baseado nas especificações de cores num sistema cartesiano de três coordenadas, o chamado Espaço de Cores da CIE. Esse espaço tridimensional de cor baseado nos eixos "L" (eixo branco difuso-negro); "a" (eixo vermelho/magenta –verde) e "b" (eixo amarelo-azul). O modo Lab cobre assim a integralidade do espectro visível pelo olho humano e representa-o de maneira uniforme. Permite por conseguinte descrever o conjunto das cores visíveis, independentemente de qualquer tecnologia gráfica. Expressando então na coordenada L a luminosidade (valores de 0 a 100, cores escuras e claras), na coordenada a cromaticidade (cores esverdeada e avermelhada), na coordenada b a saturação (cores azulada e amarelada) e calculou-se o ângulo de cor ou hue (H°), tonalidade da cor ou matriz, pela fórmula $h = \tan^{-1} (b^*/a^*)$ (valores de 0° a 360° , a cor propriamente dita) (SEVERO, *et al.*, 2011).

2.6.2 Firmeza de Polpa

A firmeza de polpa é muitas vezes confundida com o termo textura. A firmeza da polpa de um fruto refere-se ao grau de dureza, enquanto a textura é mais complexa, uma vez que reflete a sensação produzida nos órgãos responsáveis pela identificação do alimento, cujas sensações são representadas pela dureza, maciez, fibrosidade, suculência, granulosidade, resistência e elasticidade (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

De acordo com Hall e Augustine (1981) citado por Andrade Júnior (2001), a qualidade dos frutos também está relacionada diretamente à firmeza. As substâncias pécticas atuam como material cimentante e encontram-se na parede celular (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Com o amadurecimento do fruto ocorre a degradação das substâncias pécticas, e esse fator é evidenciado pelo amolecimento da polpa. A firmeza é um fator crítico que pode influenciar o período de conservação e a resistência ao manuseio, ao transporte e ao ataque de microrganismos, visto que o amolecimento precoce dos tecidos acelera o processo de senescência, diminuindo a vida útil deste.

Os valores de firmeza de polpa são obtidos com auxílio de penetrômetros que, através da compressão exercida, medem a força equivalente para vencer a resistência dos tecidos da polpa. A determinação é realizada em duas faces ou mais

opostas da região equatorial, posicionando o pistão perpendicularmente à polpa, devido ao fato de que a maturação não é uniforme em todos os pontos do fruto (KLUGE et al., 1997). Normalmente ocorre uma variação significativa de leituras em um mesmo fruto, principalmente quando estão maduras. Por isso é importante ter amostragem representativa, tomando como válido o valor médio de vários frutos. Outro fator importante é a execução da medida sempre da mesma maneira: fruto posicionado firmemente e a mesma velocidade de penetração. O pistão deve penetrar no tecido da polpa até a ranhura circular, devendo então cessar a pressão. Os modelos de penetrômetro mais usados expressam os resultados em libras, quilos ou newtons (1 libra equivale a 0,454 Kg ou 4,44 N), utilizando ponteiras de diferentes medidas de diâmetro em milímetros (mm) para cada caso específico.

2.6.3 Acidez Total Titulável

A acidez total titulável (ATT) é uma importante característica de qualidade e é bastante variável em função tanto de fatores ambientais como de fatores da própria planta (cultivar, estágio de maturação, etc.) (CHITARRA, 1997). Segundo Carvalho *et al.* (1990) a ATT tem influência direta no sabor do fruto, pois indica a adstringência e mede a quantidade de ácidos orgânicos. Os ácidos orgânicos representam um dos principais substratos para os processos respiratórios durante o amadurecimento e de forma geral tendem a diminuir significativamente durante esta fase (TUCKER, 1993; KAYS, 1991). O declínio dos ácidos orgânicos durante o armazenamento dos frutos está associado à oxidação dos mesmos para a produção de energia no ciclo de Krebs (COSTA, 2008).

Segundo Córdova (2006), o principal constituinte da maçã, baseando em sua quantidade, é a água, quanto aos ácidos orgânicos, predomina o ácido málico, juntamente com os açúcares, ésteres e aldeídos é o principal elemento responsável pelo aroma e sabor característico da maçã.

De acordo com Carvalho *et al.* (1990) a ATT é determinada em que 10 g de polpa foram homogeneizadas em 90 mL de água destilada. A suspensão foi titulada com hidróxido de sódio (NaOH) expressado em normalidade (N) para a neutralização dos ácidos orgânicos, o que ocorre quando a solução atinge o pH 8,10, com resultados expressos em porcentagem de ácidos orgânicos. A acidez expressa em porcentagem do ácido málico em g/100 mL da amostra foi de 0,33 este

valor encontrado em maçã cv. 'Fuji' desidratada osmoticamente encontrado por Córdova (2006).

2.6.4 Sólidos Solúveis Totais

Os sólidos solúveis totais (SST) indicam o teor de sólidos que se encontram dissolvidos no suco ou na polpa dos frutos. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), os SST são expressos em °Brix e têm a tendência de aumento com a maturação, tendo em vista o acúmulo de açúcares. Em média, o acúmulo de açúcares representam de 65% e 85% do teor SST dos frutos.

Em alguns tipos de frutos, essa medida é de importância tanto para o consumo *in natura* como para o processamento industrial, visto que elevados teores na matéria-prima implicam em menor adição de açúcares. E, menor tempo de evaporação da água, menor gasto de energia e maior rendimento do produto, resultando em maior economia no processamento (CHITARRA, 1994).

Em maçãs, frutos de comportamento climatérico, a quantidade de SST tende a aumentar durante o período de armazenamento, pelo fato destes frutos continuarem o processo de respiração (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

2.6.5 Enzimas Polifenoloxidasas (PFO)

Segundo Funamoto *et al.* (2003), as reações de origem enzimática das enzimas polifenoloxidase (PFO) constituem importante grupo de enzimas associadas ao escurecimento, amplamente encontradas em tecidos vegetais. Essas enzimas são responsáveis pela deterioração da qualidade em muitos frutos congelados (CANO *et al.*, 1995). Elas agem após a ocorrência de danos mecânicos, cortes ou outro tipo de injúrias às células, visto que ocasionam o rompimento das paredes e membranas celulares, comprometendo a separação entre as enzimas e os substratos fenólicos, favorecendo desta forma, a reação de escurecimento. As PFO são as principais responsáveis pelo escurecimento enzimático em pêssegos (GIRNER *et al.*, 2002), melões 'Cantaloupe' (LAMIKANRA; WATSON, 2006), bananas 'Maçã' (MELO; VILAS-BOAS, 2006), maçãs cv. 'Fuji' (ROJAS-GRAU *et al.*, 2008) e em batatas (LOVATTO *et al.*, 2012), e são encontradas nas plantas, nos

animais e em alguns microrganismos, especialmente nos fungos (ARAÚJO, 1999; ELBE; SCHWARTZ, 2000).

Entre os principais fatores determinantes para a reação estão a concentração da enzima e dos compostos fenólicos, pH, temperatura e disponibilidade de oxigênio, que podem ser modificados para evitar o escurecimento (LEE, 2000; MARTINEZ; WHITAKER, 1995; BUSCH, 1999). Na polpa dos frutos, os compostos fenólicos são oxidados pelas polifenoloxidasas, dando origem a quinonas, que se polimerizam e formam os compostos de coloração escura, denominados melanoidinas (GIRNER *et al.*, 2002). Whitaker e Lee (1995) acreditam que mais de 50% das perdas em frutos ocorrem como resultado do escurecimento enzimático.

Com a grande produção de maçãs e seus derivados, e a implantação de fábricas, tem-se a necessidade de se estudar o escurecimento enzimático e seu comportamento com relação ao processamento. Essa alteração modifica o sabor do produto final. A determinação da atividade da PFO pode ser realizada de acordo com a metodologia adaptada de Siriphanic e Kader (1985) e Flurkey e Jen (1978), realizando a leitura da absorvância a 420nm no tempo de 2 minutos, expressos em absorvância.grama⁻¹.peso fresco⁻¹.minuto⁻¹.

2.6.6 Compostos Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos totais (CFT) são sintetizados por todas as plantas, e está característica se desenvolveu durante a evolução, quando as plantas tiveram a necessidade de usar um mecanismo de adaptação para competir com outras espécies e com os fatores abióticos, assegurando sua sobrevivência (SOUZA FILHO; ALVES, 2002). Dentre uma alta variedade de metabólitos secundários encontram-se os compostos fenólicos que englobam uma gama enorme de substâncias, entre elas os ácidos fenólicos, os quais, por sua constituição química, possuem propriedades capazes de inativar radicais livres. Os compostos fenólicos são substâncias químicas que apresentam no mínimo, uma hidroxila diretamente ligada a um anel aromático (HARBONE, 1997). Estes compostos agem na planta como defesa contra herbívoros e patógenos, possuem ação alelopática e atraem polinizadores e dispersores de sementes, além de proteger as plantas frente aos raios UV (TAIZ; ZEIGER, 2009; KEUTGEN; PAWELZIK, 2007). E o teor destes

compostos presentes em frutos dependem da cultivar (GIL *et al.*, 2002) e do tipo de manejo realizado sobre o solo (MARTINS *et al.*, 2004). Estudos têm demonstrado que polifenóis naturais possuem efeitos significativos na redução do câncer, e evidências epidemiológicas demonstram correlação inversa entre doenças cardiovasculares e consumo de alimentos fonte de substâncias fenólicas, possivelmente por suas propriedades antioxidantes (KARAKAYA, 2004; NINFALI *et al.*, 2005).

Para a determinação destes compostos mais comumente se utiliza o método de Folin Denis (SWAIN; HILLS, 1959) que se baseiam nas reações de oxirredução entre compostos fenólicos e íons metálicos, produzindo pigmentos de cor azul, os quais permitem estimar o teor de CFT.

2.6.7 Capacidade Antioxidante

Antioxidante é um composto que protege o sistema biológico contra o efeito nocivo de reações ou processos que podem causar oxidação excessiva (KRINSKY, 1994). Evidências epidemiológicas crescentes do papel de alimentos antioxidantes na prevenção de certas doenças têm conduzido ao desenvolvimento de grande número de métodos para determinar a capacidade antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURACALIXTO, 2006).

Métodos para a análise da atividade antioxidante podem ser baseados na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), poder de redução do metal (FRAP; CUPRAC), captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS, DPPH), quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do β -caroteno) (FRANKEL; MEYER, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002; ARUOMA, 2003), etc. Dentre estes métodos, ABTS, FRAP, DPPH e ORAC são alguns dos mais usados atualmente (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURACALIXTO, 2006).

O método DPPH (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995) é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância, leituras realizadas no espectrofotômetro a 515 nm, e resultados expressos em $\mu\text{g Trolox.grama}^{-1}$ de fruto.

2.7 Avaliações Microbiológicas

As etapas de elaboração dos PMP e os próprios processos respiratórios dos vegetais afetam as estruturas e, conseqüentemente, o desenvolvimento microbiano (BRACKETT, 1997). Segundo Tornuk *et al.* (2011), as etapas do processamento mínimo fornecem uma porta de entrada para os patógenos durante a pós-colheita, o que reduz a vida de útil dos PMP.

A gama de microrganismos existentes nos PMP depende de diversos fatores para crescerem como o tipo de fruto (pH, atividade de água, nutrientes), sua procedência, etapas de processamento (lavagem, sanitização, descascamento, corte, embalagem, temperatura de armazenamento) e condições higiênico-sanitárias do manipulador, dos equipamentos e utensílios, bem como do ambiente (LÓPEZ-GÁLVEZ *et al.*, 2009).

A qualidade microbiológica dos alimentos minimamente processados está relacionada à presença de microrganismos deteriorantes e/ou causadores de infecções ou intoxicações que irão influenciar nas alterações sensoriais do produto durante sua vida útil (RAHMAN *et al.*, 2011). Contudo, a maior preocupação está relacionada à sua segurança, não apresentando contaminação por agentes químicos, físicos e microbiológicos em concentrações prejudiciais à saúde (VANETTI, 2004).

A produção, a distribuição, a qualidade e a segurança dos PMP são limitadas pelos conhecimentos que se têm acerca desse tipo de produto (BOLIN; HUXSOLL, 1989). No Brasil não há uma legislação específica que controle a aplicação produtos químicos e estabeleça padrões microbiológicos sanitários para estes produtos. Por isso, se utiliza o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), (BRASIL, 2001), estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos, não existindo padrões específicos para os frutos minimamente processados. Estes podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: “frutas frescas, *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto”, cuja tolerância máxima para amostra indicativa é de 5×10^2 NMP.g⁻¹ ou UFC.g⁻¹ de *Coliformes* a 45°C e ausência de *Salmonella* sp em 25g. No item 22 da resolução, pratos prontos para o consumo a base de verduras, legumes, raízes, tubérculos e similares do regulamento, além das análises

citadas acima, estabelece que deverão ser realizados também as determinações de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus coagulase* positivo, tendo por tolerância 10^3 UFC.g⁻¹ para ambos.

Para prolongar a vida útil dos PMP, alguns métodos e técnicas estão sendo utilizados, como a refrigeração, que reduz a taxa de respiração e senescência, sendo a faixa ideal 2 a 5 °C, dependendo do fruto ou hortaliça (MORETTI, 2007); o controle da umidade relativa, que minimiza a perda de água pelos produtos; embalagens com atmosferas modificada ou controlada, que também diminuem a taxa de respiração e a senescência; aditivos químicos, para controlar alterações fisiológicas e redução a carga microbiana (SHEWFELT, 1987). A sanitização da superfície dos frutos e hortaliças é de suma importância para a preservação da qualidade destes produtos (ANTONIOLLI *et al.*, 2006). Como pode ser observado no trabalho de Bett *et al.* (2001), com maçãs cv. 'Gala' minimamente processadas, a sanitização pode ser feita através de hipoclorito de sódio, na concentração de 50 a 200ppm, o pH deve ser ajustado para valores de 5,0 a 6,0, apresentando resultado positivos no controle microbiológico.

3 Artigo 1: CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE DE MAÇÃ CV. 'FUJI' MINIMAMENTE PROCESSADA TRATADA COM ADITIVOS

Resumo: O escurecimento enzimático é uma das alterações mais facilmente perceptíveis em maçãs minimamente processadas (MP), e sua ocorrência pode ser afetada pelo tempo de armazenamento dos frutos antes do processamento. Por isso testaram-se tratamentos pós-processamento visando prevenir essa alteração, buscando associar com possíveis interações com o tempo de estocagem dos frutos antes do processamento. Foram utilizadas maçãs cv. 'Fuji' armazenadas durante 20, 78, 138 e 188 dias em atmosfera refrigerada. Os frutos de cada período foram processados e tratados com cloreto de L_cisteína (LC) a 0,5% (T2), ácido ascórbico (AA) a 1% (T3), LC a 0,5% com cloreto de cálcio (CC) (T4) a 1%, AA a 1% com CC a 1% (T5) e como controle água destilada (T1). Como variáveis dependentes, avaliou-se a coloração da polpa (L, a*, b* e H°), o teor de sólidos solúveis totais, a acidez total titulável, a firmeza de polpa, o teor de compostos fenólicos, a atividade antioxidante e a quantificação da atividade enzimática polifenoloxidase. Além disso, a título de controle da segurança microbiológica, foi analisado a presença ou não de

Coliformes totais, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e outras enterobactérias, bem como fungos filamentosos. A aplicação dos agentes coadjuvantes reduziu o escurecimento enzimático, bem como o amaciamento dos tecidos, tendo como destaque o tratamento T4 (LC+CC). No que tange ao período de armazenamento das maçãs pré-processadas, a melhor redução do escurecimento foram obtidas com maçãs armazenadas até 78 dias. Os resultados de análises microbiológicas, conforme os parâmetros da Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Governo Brasileiro (RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001), permitiram classificar os produtos minimamente processados obtidos neste estudo como toxicologicamente seguros, para coliformes totais, fungos e leveduras apontam um problema microbiológico. Assim, o tempo de armazenamento refrigerado antes do processamento afeta a qualidade das maçãs MP, após o processamento, o uso de LC+CC se constituiu no melhor tratamento para maçãs cv. 'Fuji'.

Palavras-chave: antioxidantes; *Malus domestica*; armazenamento; processamento mínimo;

3.1 Introdução

A macieira (*Malus domestica*, Borkh.), é uma frutífera típica de clima temperado, de folhas caducas, da família das Rosáceas, e possui uma grande importância social, ambiental e econômica no sul do Brasil, além de provocar diversos benefícios à saúde. A maçã é o terceiro fruto mais consumido pelas famílias brasileiras, perdendo apenas para a banana e as frutas cítricas (IBGE, 2010). As mudanças de hábitos de consumo vêm crescendo, potencializando o setor de frutas minimamente processadas (GOODBURN; WALLACE, 2013), com isso, aumentando a competitividade no setor produtivo e possibilitando novas possibilidades de colocação de produtos no mercado.

Uma série de etapas caracteriza o processamento mínimo como sanitização, descascamento, corte e/ ou abrasões, que promovem a conveniência de consumo de frutos e hortaliças, a expensas da redução de sua vida útil pós-colheita. Para a redução do escurecimento enzimático de vegetais vários agentes coadjuvantes se

aplicam, tais como cloreto de L-cisteína, ácido L-ascórbico e cloreto de cálcio. O cloreto de L-cisteína tem sido utilizado com eficácia na conservação de banana (MELO; VILAS-BOAS, 2006), maçãs e batatas (MOLNAR-PEARL; FRIEDMAN, 1990; ROCCULI *et al.*, 2007). Os compostos que contém grupo tiol, como L-cisteína, N-acetil-L-cisteína e glutathiona reduzida são bons inibidores da enzima polifenoloxidase (PFO), aquela que catalisa o escurecimento enzimático em frutos e hortaliças (FRIEDMAN; BAUTISTA, 1995). O ácido L-ascórbico tem sua ação redutora das o-quinonas, formadas através da oxidação dos fenóis pelas PFO, até os o-dihidroxifenóis e ação direta sobre a enzima PFO, complexando o cobre do grupo prostético desta, causando sua inibição (SAPERS; MILLER, 1998 apud MELO; VILAS BOAS, 2006) e contribuição nutricional (vitamina C), e é utilizado com eficácia para evitar o escurecimento enzimático de batatas (ROCCULI *et al.*, 2007), abacaxis (GONZÁLEZ-AGUILAR *et al.*, 2004), pêras (GORNÝ *et al.*, 2002), entre outros. O cloreto de cálcio é uma agente quelante, amplamente empregado na conservação de frutos e hortaliças minimamente processadas, torna firmes as células dos tecidos destes vegetais (MELO; VILAS-BOAS, 2007).

O emprego de agentes coadjuvantes para prolongar a vida útil dos alimentos é de grande interesse, já que podem manter as propriedades mecânicas do sistema do alimento, controlar a perda de sabores, textura, de água e evitar a ocorrência das reações de escurecimento. Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de prolongamento da vida útil da maçã cv. 'Fuji' minimamente processada aplicando os agentes coadjuvantes (cloreto de L-cisteína, ácido L-ascórbico e cloreto de cálcio) individuais ou combinados, assim como determinar o melhor período de armazenamento do fruto inteiro para a realização do processamento mínimo.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Material

O experimento foi conduzido com maçãs cv. 'Fuji' provenientes do pomar comercial da empresa Randon Agrosilvopastoril S.A. (RASIP), em Vacaria, RS, Brasil, situado a aproximadamente 900m de altitude, apresentando como coordenadas geográficas 50° 56' 02" de latitude sul e 28° 30' 14" de longitude oeste.

As maçãs passaram por seleção, procurando tornar o lote uniforme quanto ao grau de maturação e à ausência de danos mecânicos visíveis ou podridões. Os frutos foram armazenados em câmara fria com temperatura entre 0 - 1°C e com umidade relativa entre 90 - 95% e analisadas no Laboratório de Pós-colheita da Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS/Brasil).

3.2.2 Processamento

A cada período de armazenamento do fruto íntegro [20 (P1), 78 (P2), 138 (P3) e 188 (P4) dias], realizou-se o processamento mínimo dos frutos. Primeiramente, as maçãs passaram pela sanitização com hipoclorito de sódio a 0,2%, pH 6,0, por 10 minutos (min) em temperatura ambiente. As maçãs foram cortadas em 4 pedaços, em formato de gomos, retirando-se a parte central que contém as sementes, todas as maçãs apresentavam o mesmo calibre. Posteriormente, as maçãs foram tratadas por imersão de 1min, com drenagem de 1min, nos tratamentos com: água destilada como controle (T1), cloreto de L-cisteína (LC) a 0,5% (m/v) (T2), ácido L-ascórbico (AA) a 1% (m/v) (T3), LC a 0,5% juntamente com cloreto de cálcio (CC) a 1% (m/v) (T4) e AA a 1% (m/v) juntamente com CC a 1% (m/v) (T5).

3.2.3 Acondicionamento

As maçãs foram acondicionadas em bandejas poliestireno expandido (isopor) de 150x150x20mm, que continham um maçã em formato de gomos, embaladas com filme policloreto de vinila (PVC) esticável de 9 micra. As bandejas foram armazenadas por 3 (E1), 6 (E2), 9 (E3) e 12 (E4) dias em câmara fria a $\pm 4^{\circ}\text{C}$, sob UR de 90 a 95%, simulando o tempo de comercialização do produto. A temperatura e a UR das câmaras foram monitoradas por sistema computadorizado. Para cada análise prepararam-se 12 bandejas para cada tratamento, totalizando 60 bandejas (T1, T2, T3, T4 e T5) por cada período, totalizando 240 bandejas para os quatro tempos de análise pós-processamento. Como foram realizados os tratamentos em maçãs armazenadas por 4 períodos (P1, P2, P3 e P4), o delineamento total completou 960 bandejas.

3.2.4 Análises Físico-químicas

A coloração da polpa foi mensurada com colorímetro Minolta CR-300, com sistema de leitura CIE L*a*b*, proposto pela *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE), e o matiz ou tonalidade cromática representado pelo ângulo Hue (H°), através da fórmula arco tangente b*/a. O resultado desta equação, expresso em radianos, foi então convertido em graus, conforme Minolta (1994).

A firmeza de polpa foi realizada com o auxílio de penetrômetro manual, McCormick FT 327, com ponteira cilíndrica de 8mm de diâmetro. Foram feitas cinco leituras por unidade experimental e os resultados expressos em Newton (N). Para acidez total titulável (ATT), foram utilizadas 10 mL de polpa triturada de maçã adicionadas de 90 mL de água destilada. A titulação da amostra foi feita com o auxílio de bureta digital, Brand®, contendo solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 N até atingir o pH 8,1. A acidez titulável foi expressa em gramas de ácido málico.100g⁻¹ de polpa (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). O teor de sólidos solúveis totais foi quantificado com um refratômetro digital manual, ATAGO, modelo PAL-1, que consiste em medir o índice de refração da amostra e os resultados foram expressos em ° Brix (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A quantificação da atividade enzimática polifenoloxidase (PFO) foi feita através dos métodos adaptados de Siriphanic e Kader (1985) e Flurkey e Jen (1978). Para a obtenção do extrato enzimático, utilizaram-se amostras com 0,2 g de pó-acetona e 7,5 mL de tampão fosfato potássico + 0,25 g de polivinilpirrolidona. Logo, as amostras foram maceradas com um bastão de vidro e agitadas por 20 minutos em recipiente contendo água e gelo. Posteriormente, os frascos foram levados para centrifuga Sorvall® modelo RC – 5B a velocidade de 12.000 rpm (\pm 15.000g) a 4°C por 20 minutos. No transcorrer, as amostras foram filtradas em papel filtro e transferidas para tubos de ensaio. Destes extratos foram retirados 0,2 mL e colocados em tubos que continham 2 mL de solução de catecol 0,02 M e tampão fosfato potássico. Por fim, estas amostras foram agitadas por 30 segundos e levadas ao espectrofotômetro Genesys® 10 UV/Vis para proceder a leitura da absorbância a 420 nm em função das reações, foram conduzidas a 25°C. Assim foram obtidos os resultados da atividade da polifenoloxidase, expressos em absorbância.g⁻¹.peso fresco⁻¹.min⁻¹.

Os compostos fenólicos (CF) foram quantificados utilizando o reagente Folin-Ciocalteu conforme o protocolo descrito por Swain e Hillis (1959), modificado. Para extração, foram utilizados 5 g de amostra (polpa de maçã cv. 'Fuji') com 20 mL de metanol (P.A.), trituradas em Ultraturrax®, centrifugadas em centrífuga Jouan® modelo CR 4.11 refrigerada à 4° C por 15 minutos a 4.000 rpm (\pm 6.000g). O sobrenadante foi separado em eppendorf e armazenado em freezer (-18 à -22°C). Para composição das amostras que foram levadas para leitura em espectrofotômetro foram utilizados 70 μ L desse sobrenadante e adicionados a ele 180 μ L de metanol (P.A.), 4000 μ L de água deionizada e 250 μ L de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos, a solução foi neutralizada com 500 μ L de solução de carbonato de sódio e as amostras foram mantidas no escuro por 2 horas. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro Genesys® 10 UV/Vis a 725 nm. O ácido clorogênico foi utilizado como padrão para construção da curva de calibração e o teor de compostos fenólicos totais foi expresso em mg de ácido clorogênico.100-1 g de fruto.

A atividade antioxidante foi determinada através de espectrofotometria segundo metodologia adaptada de Brand-Williams *et al.* (1995). Esse método é baseado na captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm. A extração foi aquela a utilizada para os compostos fenólicos totais. Para a leitura retiraram 40 μ L do sobrenadante e a eles adicionados 160 μ L de metanol (P.A.) e 3800 μ L de DPPH diluído. Após 24 horas, foi realizada a leitura em espectrofotômetro Genesys® 10 UV/Vis a 515 nm, e os resultados foram expressos em μ g Trolox.g⁻¹ de fruto.

3.2.5 Análises microbiológicas

Para verificar a segurança e qualidade microbiológica, as maçãs minimamente processadas foram avaliadas enquanto à presença de bactérias da família *Enterobacteriaceae*, como os gêneros *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e entre outras enterobactérias, juntamente com o grupo dos coliformes totais e dos fungos filamentosos e leveduras. Avaliou-se também a presença de *Staphylococcus aureus* (família *Micrococcaceae*). As bandejas foram desinfetadas externamente com álcool 70% antes de serem abertas. Para diluição das amostras, foram utilizados 25g de maçã cv. 'Fuji' de cada tratamento e 225 mL de água estéril. A

mistura de amostra e água estéril foi encaminhada para homogeneizador BagMixer® por 60 segundos, em velocidade reduzida para não danificar as células microbianas que pudessem existir.

Para a identificação do gênero *Salmonella* e demais enterobactérias, as amostras foram diluídas com 25g de maçã e 225mL de caldo lactosado, ao invés de água estéril, em homogeneizador BegMixer®. Logo, as amostras foram enriquecidas em estufa a 37°C por 24 horas. Às placas de Petri foram adicionados aproximadamente 20mL de ágar, após a solidificação deste meio foi realizado o plaqueamento de 0,1mL das amostras diluídas. Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas em posição invertida. Os dados microbiológicos foram analisados na forma de presença ou ausência do microorganismo em unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC.g⁻¹).

Para identificação da presença de coliformes totais e *Escherichia coli* foi utilizada a técnica de contagem em placas com meio de cultura seletivo (ágar Chromocult – Merck®). O plaqueamento das amostras em placas de Petri foi realizado com auxílio do *Spiral Plater System* Autoplate 4000® e feito em superfície. Às placas de Petri foram adicionados aproximadamente 20 mL de ágar Chromocult; após a solidificação desse meio foi realizado o plaqueamento de 0,1 mL das amostras diluídas. Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas em posição invertida.

Para identificação da bactéria *Staphylococcus aureus*, foi utilizado o meio ágar Baird-Parker, sobre três placas de Petri contendo este meio foram inoculadas 0,3mL de amostra de maçã diluída e sobre uma placa de Petri foi inoculada 0,1mL de amostra de maçã diluída, totalizando 1mL de amostra.

Os fungos filamentosos e leveduras foram plaqueados em placas de Petri em profundidade de 1mL de amostra diluída. Sobre estas amostras, foi adicionado cerca de 20 mL do meio ágar batata dextrose (BDA), previamente fundido e resfriado a 44 – 46°C. Logo após, essas placas foram homogeneizadas com movimentos suaves e deixadas solidificar à temperatura ambiente. As placas foram incubadas em estufa a 25°C por um período de 3 a 5 dias.

3.2.6 Delineamento Experimental e Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, em esquema trifatorial com três repetições. O fator A foi composto por períodos de armazenamento das maçãs inteiras, pré-processamento, em câmara fria (20, 78, 138 e 188 dias); o fator B foi representado por períodos de armazenamento pós-processamento mínimo, simulando vida de prateleira (3, 6, 9 e 12 dias) e, o fator C foi representado por tratamentos químicos (controle, água destilada; LC 0,5%; AA 1%; LC 0,5% + CC 1%; AA 1% + CC 1%). Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, à homocedasticidade pelo teste de Hartley e a independência dos resíduos foi verificada graficamente. Para as variáveis microbiológicas (Coliformes totais, *Enterobactérias* e fungos) foi necessária a transformação dos dados $\sqrt{(x+1)}$. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Em caso de significância, os efeitos dos tratamentos foram analisados por intervalo de confiança. As diferenças entre os tratamentos foram consideradas significativas, quando não houve sobreposição entre os intervalos de confiança a 95% de probabilidade. Para as variáveis microbiológicas, os efeitos dos tratamentos e dos períodos foram analisados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e o efeito das épocas (3 e 12 dias) pelo teste t ($p \leq 0,05$). A presença de correlações entre as variáveis dependentes do estudo foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson (SAS INSTITUTE, 2002).

3.3 Resultados e Discussões

3.3.1 Análises Físico-químicas

Neste experimento, inicialmente se avaliou o efeito das épocas de armazenamento bem como com o período de armazenamento dos frutos inteiros, sobre a qualidade de maçãs minimamente processadas. Para isso, a primeira avaliação constitui mensurar a coloração da polpa pelas variáveis L^* , a^* , b^* e ângulo Hue (H°). No caso específico dos valores de L^* , que indicam a claridade da polpa das maçãs, houve efeito significativo do tempo de armazenamento das maçãs pré-processadas, dos tratamentos aplicados no processamento e o tempo de estocagem. Mais detalhadamente, e considerando que quanto maior o valor de L^* mais clara é a polpa, o prolongamento do período de estocagem das maçãs de 20

para 78 dias favoreceu a ocorrência do escurecimento da polpa (Figura 1a). A partir daí, as diferenças não foram significativas. Porém, quando foram aplicados os tratamentos como LC, AA, LC+CC ou AA+CC, o escurecimento foi prevenido (Figura 1 a-b). Dentre os tratamentos aplicados às maçãs processadas, o que proporcionou melhor preservação da coloração clara dos frutos foi LC+CC, mantendo os valores médios de L^* entre 76,4 a 77,94 (Figura 1a). No contraposto, está o tratamento controle, no qual os valores médios de L^* variaram de 71,96 a 74,25. Quando se compara o uso isolado de LC ou de AA, ou o uso combinado com CC, a melhor resposta foi quando o LC está presente. Maçãs cv. 'Red Delicious' minimamente processadas armazenadas por 24 horas a 4°C também apresentaram as polpas mais claras quando tratadas com L-Cisteína a 0,5% (EISSA *et al.*, 2006).

A redução dos valores de L^* em maçãs armazenadas por períodos mais prolongados era resultado esperado, tendo em vista que nessa condição, há ocorrência de transformações bioquímicas e fisiológicas nos frutos, favorecendo o escurecimento enzimático (JOHNSTON *et al.*, 2002). Em pêssegos MP, tanto de polpa amarela quanto de polpa branca, foi observada a diminuição no valor de L^* ao longo do armazenamento (MARTÍN *et al.*, 2011). No caso da maçã cv. 'Fuji' o problema se acentuou após 78 dias de armazenamento refrigerado. Para a indústria que irá processar maçãs cv. 'Fuji' esse resultado é de suma importância, pois deverá prever que os frutos com maior tempo de armazenamento nas câmara frias terão maior suscetibilidade ao escurecimento. Por isso deverá prever práticas tecnológicas que previnam o problema. Neste trabalho, verificou-se que o uso de LC+CC constitui-se uma boa alternativa. Em relação às alterações dos valores de L^* após o processamento, novamente se percebe o destaque positivo do tratamento com LC+CC, seguido pelo uso de AA+CC. Quando compara-se a eficiência da LC e do AA aplicados isoladamente há superioridade da LC, especialmente nos primeiros 6 dias após o processamento (Figura 1b). Embora trabalhando com pêssegos Costa (2010) também observaram que a aplicação de LC+CC é o tratamento que proporciona melhor prevenção da coloração dos frutos MP. Porém este autor alerta para o fato de que a LC proporciona alteração no escurecimento em pêssegos MP após 4 dias de armazenamento.

No que concerne aos valores de a^* , ocorreu o esperado, ou seja, ao se prolongar o período de estocagem das maçãs em câmara fria aumentou os valores, proporcionando colorações mais avermelhadas. Estudo com maçãs cv. 'Fuji' MP

relatam o aumento do valor de a^* ao longo do armazenamento, sendo este mais evidenciado quando o armazenamento ocorre em temperaturas maiores do que 20°C (QI *et al.*, 2011). Assim, considerando-se que quanto menores os valores de a^* melhor é a coloração das maçãs MP, essa condição foi obtida com frutos processados a partir de lotes de maçãs oriundos de 20 a 78 dias (Figura 1c) e quando se aplicou o tratamento com LC+CC no processamento. Dessa forma, mais uma vez, se comprova a suscetibilidade das maçãs ao escurecimento, intensificando pelo prolongamento do armazenamento dos frutos antes do processamento. Para se prevenir esse problema, há necessidade de se utilizar tecnologias que previnam o escurecimento. Neste contexto, a LC, quando combinada com CC, é a que proporcionou os melhores resultados. Mesmo assim, sua eficiência é maior quando os frutos provêm de menores tempo de armazenamento de câmara fria e em frutos MP armazenados sob refrigeração por até 6 dias (Figura 1d). Rojas-Graü *et al.* (2006) encontraram resultados semelhantes ao avaliar o escurecimento em maçã MP, indicando que N-acetil-L-cisteína e glutathione são eficazes na prevenção do escurecimento.

O valor de b^* , que ao aumentar os valores indica coloração mais amarelada da polpa dos frutos. Assim, quanto menores os valores de b^* , melhor a coloração das maçãs MP. Os frutos provenientes dos primeiros períodos de armazenamento (20 e 78 dias) obtiveram os melhores resultados (Figura 1e), e ao serem aplicados os tratamentos com os coadjuvantes, o amarelamento da polpa foi evitado. Dentre os tratamentos aplicados às maçãs MP, o que proporcionou o menor amarelecimento da polpa foram os tratamentos com LC (LC e LC+CC), mantendo os valores médios de b^* entre 22,20 a 24,29 para a LC, e mantendo os valores médios de b^* entre 21,46 a 23,87 para a LC+CC (Figura 1f). No contraposto, está o tratamento controle, no qual os valores médios de b^* estão entre 28,62 a 29,70. Silva (2013) também encontrou eficiência na prevenção da coloração, com relação ao valor de b^* , com o tratamento de L-cisteína em pêssegos de polpa branca da cv 'Marfin'. A tendência ao amarelecimento da polpa já era esperada, pois ao aumentar o período de estocagem das maçãs sob-refrigeração aumenta-se a suscetibilidade às alterações desta variável (GUPTA *et al.*, 2009). Em relação à coloração da polpa, de maçãs, notou-se que as cultivares subtropicais da região leste paulista apresentaram diferentes intensidades de cor amarela, sendo a cv 'Baronesa' a que apresentou a cor da polpa amarela mais pálida, em contraposto a cv. 'Eva'

(CHAGAS *et al.*, 2012). Este aumento do valor de b^* ao decorrer do armazenamento (1 a 10 dias) foi constatado por Fagundes (2009) em maçãs cv. 'Gala' MP armazenadas a 2°C sob atmosfera modificada. No caso da maçã cv. 'Fuji' MP a melhor coloração da polpa foi obtida com frutos processados a partir dos lotes de 20 a 78 dias e quando aplicado os tratamentos LC e LC+CC no processamento (Figura 1e). Mesmo assim, sua eficiência é maior em maçãs MP com menor tempo de estocagem, após o processamento apresenta valores crescente até 6 dias de câmara fria, demonstrando valores de b^* similares até 12 dias de estocagem do produto MP. Em estudo com maçãs MP, os autores Fontes *et al.* (2008) observaram que o valor b^* revelou diferença significativa entre os tratamentos com películas comestíveis nos dias (1 a 13) de armazenamento, com valor de b^* decrescente no tratamento controle ao prolongamento do armazenamento.

Os valores de ângulo Hue (H°) praticamente mimetizam a tendência inversa dos valores de a^* , ou seja, o prolongamento do tempo de armazenamento dos frutos, antes e depois do processamento, favorece o aumento dos valores de a^* , havendo tendência inversa para os valores do ângulo Hue. Além disso, o tratamento que mais contribuiu para evitar o escurecimento com menores valores de a^* , também é aquele que proporciona os maiores valores de H° , ou seja, o tratamento LC+CC (Figura 1g-h). Mais uma vez, há demonstração da ação desse aminoácido como meio de prevenção ao escurecimento em maçãs 'Fuji' MP.

Ao se prolongar o período de estocagem das maçãs pré-processadas em câmara frias aumentou a suscetibilidade às alterações desta variável. Ao observar a Figura 1.h nota-se que a prevenção do escurecimento pode ser feita com os tratamentos realizados neste estudo. Quando comparado com o controle, o uso de LC e LC+CC, preveniram o escurecimento das maçãs MP até o sexto dia estocagem. González-Buesa *et al.* (2011) relataram diminuição do valor do ângulo Hue ao longo dos 9 dias de armazenagem de pêssegos cv. 'Andross' minimamente processados.

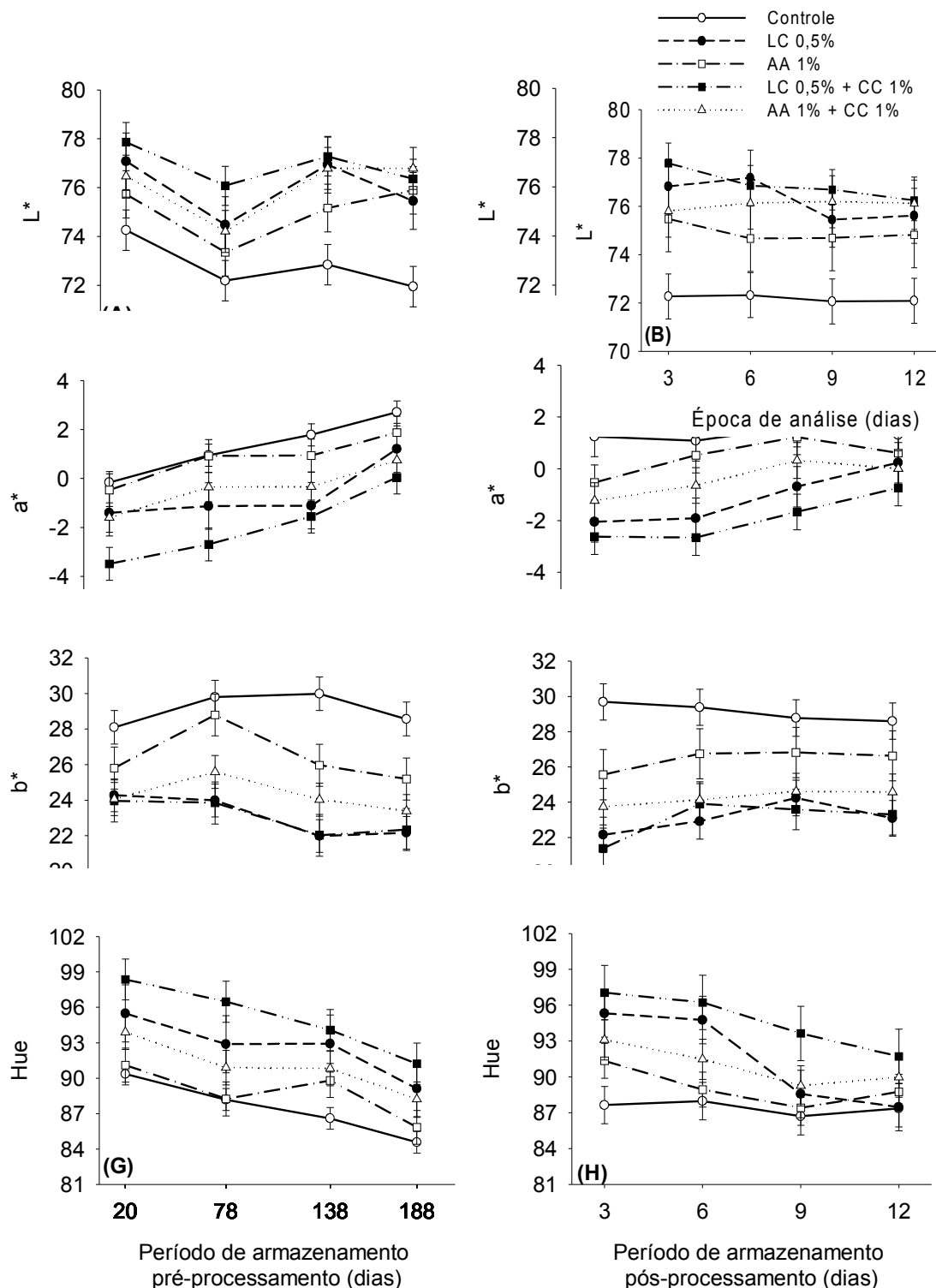


Figura 1- Parâmetros de coloração L* (A e B), a* (C e D), b* (E e F) e Hue (G e H) de maçãs cv. Fuji submetidas a períodos de armazenamento pré-processamento (20, 78, 138 e 188 dias) e pós-processamento (3, 6, 9 e 12 dias), após minimamente processadas e tratadas com: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).

Com relação à firmeza da polpa das maçãs cv. 'Fuji' não houve interação significativa quanto ao período de armazenamento pré-processamento das maçãs para com os tratamentos dos coadjuvantes utilizados pós-processamento. Após o processamento das maçãs, houve redução da firmeza de polpa em todos os tratamentos. Segundo Brackmann et al. (2000), a perda de firmeza de polpa, entre outros fatores, são parâmetros de maturação e de qualidade e que podem determinar a duração do período de armazenamento de maçãs. Houve a diminuição na firmeza da polpa das maçãs MP com a estocagem do produto, alterando de 32,89 a 27,53N no tratamento controle (Figura 2b). Em contraposto, as maçãs que mantiveram melhor a firmeza do MP, foram os tratamentos de LL+CC com valores médios de 32,83 a 31,30N e o AA+CC com valores médios de 33,07 a 30,83N (Figura 2b). Mesmo assim, eficiência é maior em frutos com menor tempo de armazenamento em câmara fria e em frutos MP armazenados sob refrigeração por até 6 dias. Supapvanich, Pimsaga e Srisujan (2011) ao trabalharem com maçãs minimamente processadas observaram que a firmeza destas manteve-se constante durante 7 dias de armazenamento. Os efeitos positivos na preservação da integridade e funcionalidade da parede celular, na aplicação de CC, mantendo por mais tempo a consistência firme do fruto, como constatado pelos autores Linhares et al. (2007). Sob o aspecto científico, a hipótese mais provável a esta resposta está relacionada com a interação do cálcio com as substâncias pécticas, responsáveis pelas mudanças de textura dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005), diminuindo a suscetibilidade à solubilização (LUNA-GUZMÁN; BARRET, 2000).

Com relação à acidez total titulável se observou que não houve diferença estatística entre o período de armazenamento das maçãs pós-processamento e os tratamentos dos coadjuvantes utilizados. Já, ao se analisar a influência do fator período de armazenamento das maçãs pré-processadas e dos tratamentos utilizados (Figura 2c), observa-se que a acidez total titulável diminuiu na medida em que é prolongado o período de armazenamento dos frutos destinados. Esta perda dos ácidos orgânicos ocorre com os processos metabólicos da maturação e senescência dos frutos em decorrência do seu uso como substrato no processo respiratório ou de sua conversão em açúcares (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Neste estudo, as variações dos valores médios da acidez titulável para os períodos de armazenamento das maçãs pré-processadas foram de 0,26 a 0,33 para 20 dias, de 0,21 a 0,23 para 78 dias, de 0,25 a 0,26 para 138 dias e de 0,13 a 0,20 para 188 dias, entre os tratamentos utilizados (Figura 2c). A acidez titulável para maçãs cv. 'Fuji', *in natura*, colhidas no estágio de maturação comercial, produzidas no Brasil, variam de 0,22 a 0,23% de ácido málico (GOULARTE *et al.*, 2010). Já, em maçãs MP com o uso de películas comestíveis a acidez titulável variou de 0,26 a 0,56% de ácido málico entre os tratamentos utilizados, para com os períodos de armazenamento pós-processamento (FONTES *et al.*, 2008). A causa provável para essa queda na acidez se deve ao armazenamento refrigerado. Para que se reduzam alguns problemas as maçãs devem ser armazenadas em atmosferas modificadas e/ou com o tratamento do composto volátil de 1 – metilciclopropeno (1-MCP), o que reduz a atividade metabólica, como consequência, preserva a acidez dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O teor de sólidos solúveis totais (SST) não houve diferença significativa entre os períodos de armazenamento das maçãs pós-processamento com os tratamentos utilizados. O que houve foi interação significativa entre os períodos de armazenamento das maçãs pré-processamento com os tratamentos realizados com coadjuvantes em maçãs cv. 'Fuji' (Figura 2a). Neste estudo encontraram-se valores médios de SST entre 14,72 a 15,65 (°Brix) obtidos com maçãs cv. 'Fuji' minimamente processada, estando em conformidade com os valores médios alcançados por Fontes *et al.* (2008), que ao trabalharem com maçãs cv. 'Royal Gala' minimamente processada e tratada com diferentes películas encontrou valores de SST entre 10,3 a 16,6 (°Brix). Nos períodos 20 a 138 dias não houve variações significativas entre os tratamentos LC e AA perante a avaliação da retirada da câmara fria para o processamento mínimo. Em contraposto esta o tratamento LC+CC que diminuiu o teor de SST de 15,58 a 15,09 °Brix entre os períodos de 20 a 78 dias, e o tratamento AA+CC que diminuiu o teor de SST de 15,40 a 14,77 °Brix entre os períodos de 78 a 138 dias. O aumento observado nos sólidos solúveis totais para os tratamentos T1 (água destilada) e T4 (LC 0,5% + CC 1%) no último período pode estar relacionado ao acúmulo de açúcares pela perda da umidade (COSTA; BALBINO, 2002), já no último período houve redução nos demais tratamentos (T2, T3 e T5), este comportamento pode estar associado ao consumo de açúcares, devido ao maior metabolismo respiratório do fruto com a temperatura.

A atividade da enzimática da polifenoloxidase (PFO) não houve interação significativa entre os períodos de armazenamento das maçãs pré-processadas com os tratamentos realizados neste estudo. Logo a atividade da PFO foi significativa pelos períodos de armazenamento das maçãs pós-processamento. De modo geral, a atividade desta enzima se reduz com o prolongamento do tempo de armazenamento refrigerado, mantendo-se em níveis maiores nos frutos processados com a aplicação dos tratamentos com coadjuvantes. Assim, havendo coerência no fato de que o aumento da atividade PFO foi observada no tratamento controle, condição em que também houve maior escurecimento, representado pelo valor do ângulo Hue. No contexto, os frutos que se apresentarem mais suscetíveis ao escurecimento foram àqueles armazenados por períodos mais prolongados. Todos os tratamentos reduziram a atividade da PFO quando comparados com o controle, demonstrando assim que os tratamentos utilizados podem atuar sobre esta enzima, redução da atividade da enzima também encontrada por Costa *et al.* (2011) ao tratar os produtos minimamente processados com coadjuvantes. Em estudos realizados por Martins (2010) com pêssegos 'Aurora-1' MP obtiveram um aumento significativo até o 8º dia de armazenamento, com posterior declínio até o 12º dia de armazenamento destes produtos.

A atividade enzimática nestes produtos também foi influenciada pelos tratamentos antioxidantes utilizados, sendo que o tratamento com AA proporcionou redução na atividade da PFO (ARAUJO, 2008). Em maçãs cv. 'Fuji' MP, o tratamento que mais foi eficiente na redução da enzima PFO durante todo o período de armazenamento do produto processado foi o AA com valores médios de 0,14 a 0,16, posteriormente o tratamento AA+CC com valores médios de 0,17 a 0,19. Em contraposto, com o controle, cujos valores médios variam de 0,20 a 0,25, são considerados relativamente elevados, proporcionando condições favoráveis ao escurecimento. O fato de haver ação do AA sobre a atividade enzimática já era esperado, pois Lamikanra e Watson (2006) demonstraram que a elevada concentração dessa molécula pode reduzir a disponibilidade de cofatores para essa enzima.

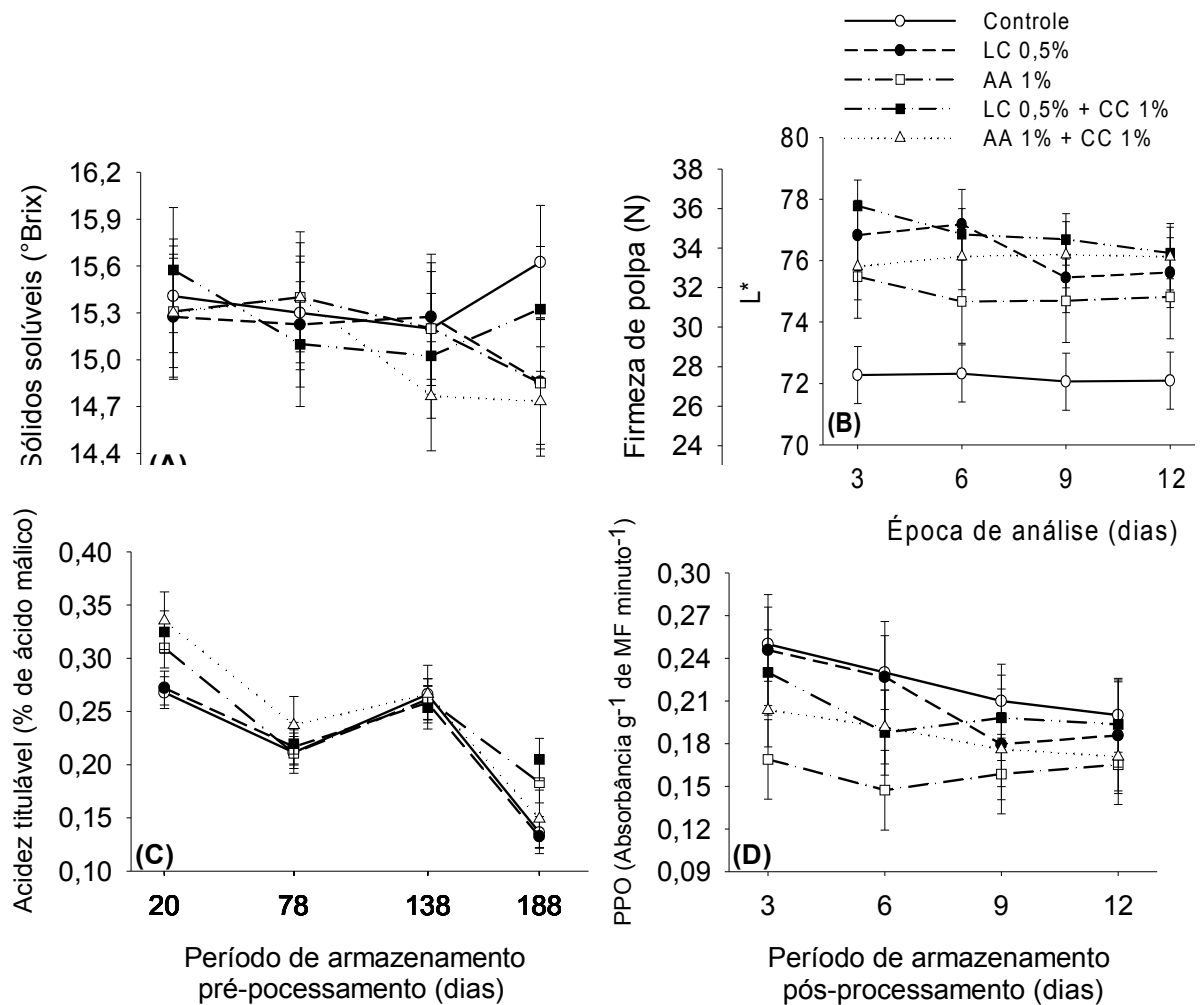


Figura 2 - Sólidos solúveis (°Brix - A), firmeza de polpa (N - B), acidez titulável (% de ácido málico - C) e polifenoloxidase (PPO - Absorbância g⁻¹ de MF minuto⁻¹ - D), de maçãs cv. Fuji submetidas a períodos de armazenamento pré-processamento (20, 78, 138 e 188 dias) e pós-processamento (3, 6, 9 e 12 dias), após minimamente processadas e tratadas com: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi afetado pela interação entre os períodos de armazenamento das maçãs pré-processadas com os tratamentos avaliados, bem como, entre os períodos de armazenamento das maçãs pós-processamento com os tratamentos utilizados. Os tratamentos utilizados, neste estudo, foram eficientes para manter o teor de CFT. Tendo o teor de polifenóis totais no tratamento de AA valores médios que variam de 331,96 a 363,58 mg de ácido clorogênico.100 g⁻¹ de fruto, sendo que o controle variou de 269,26 a 294,98 de

ácido clorogênico.100 g⁻¹ de fruto, perante os períodos de armazenamento das maçãs pré-processamento (Figura 3a).

Em genótipos de pêsego e ameixas, do banco de germoplasma, os autores Vizzotto, Cisneros-Zevallos e Byrne (2007) estudaram a variação fitoquímica e detectaram que o teor de compostos fenólicos totais (mg de ácido clorogênico.100 g⁻¹ de fruto) em pêsego variou de 228 a 1260 e em ameixas variou de 214 a 474 de polpa vermelha. Com relação ao tempo de estocagem das maçãs pré-processadas, após 138 dias os fenóis totais diminuíram, isto ocorre por consequência do metabolismo de maturação e senescência, provavelmente ocasionados pela oxidação destes compostos pelas polifenoloxidasas (MISHRA *et al.*, 2012).

Assim os tratamentos AA, LC+CC e AA+CC foram importantes redutores no combate ao escurecimento dos produtos que dependem diretamente da quantidade de enzimas e substratos, tanto para os períodos de armazenamento das maçãs pré e pós-processamento (Figura 3ab). Em estudos com MP de maçãs com diferentes cultivares encontra-se uma grande concentração de compostos fenólicos, dependem de fatores como cultivar, colheita, condições de armazenamento e processamento (ROSSLE, *et al.*, 2010; KARAMAN, *et al.*, 2013). O teor de compostos fenólicos totais (mg de ácido clorogênico.100 g⁻¹ de fruto) para maçã e seus derivados apresentou valores médios de 186 para maçã cv. 'Fuji' inteira (*Malus domestica*), de 1444 para a maçã polinizadora (*Malus everest*), de 875 para a farinha de maçã e de 1426 para o suco concentrado de maçã (GULARTE *et al.*, 2007). Com base neste estudo, observa-se que os teores de CFT das maçãs cv. 'Fuji' MP obteve valores médios de 263,45 a 371,79 (Figura 3b) valores superiores ao fruto inteiro, segundo estudos mostrados anteriormente, favorecendo assim, ao escurecimento.

É claro para que o escurecimento aconteça, além de haver elevados valores da enzima PFO, três condições adicionais são necessárias: haver o substrato (compostos fenólicos), o oxigênio (O₂) e o contato para completar a reação (PFO+O₂+substrato) (GONZÁLEZ-BUESA *et al.*, 2011). No caso das maçãs, há elevada atividade da PFO, elevado o teor de CFT, há exposição ao O₂ e dano causado pelo corte dos frutos, facilitando a ocorrência da reação de escurecimento. Por isso, é importante o uso de recursos que dificultem ou retardam a ocorrência dessa reação enzimática. No presente estudo, o uso pós-processamento de LC com CC proporcionou o melhor resultado, tanto na coloração da polpa, quanto na firmeza de polpa. Em termos de CFT e atividade da PFO, o tratamento que apresentou o

melhor desempenho foi o AA e em alguns casos o AA+CC, mantendo a menor atividade da PFO.

Para a capacidade antioxidante das maçãs cv. 'Fuji' houve interações significativas entre os períodos de armazenamento pré-processamento com os tratamentos utilizados, bem como entre os períodos de armazenamento pós-processamento e os tratamentos realizados.

Os tratamentos com coadjuvantes utilizados neste estudo afetam a atividade antioxidante, sendo que o tratamento com AA promoveu maiores valores (3005,49 a 2705,14 $\mu\text{g Trolox.g}^{-1}$ de fruto); em contraposto está o tratamento controle no qual se obteve a menor capacidade antioxidante, com valores médios de 2640,60 a 2341,03 $\mu\text{g Trolox.g}^{-1}$ de fruto (Figura 3c).

No último período de armazenamento das maçãs pré-processadas observa-se que os tratamentos AA, LC e LC+CC foram similares e mantiveram a melhor atividade antioxidante ao final do armazenamento refrigerado. Oms-Oliu *et al.*, (2008) comprovaram que tratamentos à base de N-acetilcisteína e glutatona aplicados na pós-colheita na forma de imersão em peras minimamente processadas revestidas e não revestidas por polissacarídeos foram capazes de manter em níveis elevados a atividade antioxidante.

Para os períodos de armazenamento das maçãs pós-processamento houve variações similares ao pré-processamento, onde o tratamento que obteve a maior capacidade antioxidante foi AA (3070-2876,43), posteriormente os tratamentos LC+CC (2362,86-2757,14) e AA+CC (2355,45-3151,43) que obtiveram capacidade antioxidante superior ao controle (Figura 3d). Estudos realizados por Zardo *et al.* (2009) em diversas cultivares de maçãs e diferentes parte do fruto, na cv. 'Gala' obteve o maior valor da atividade antioxidante, em todas as suas partes, na polpa a atividade antioxidante atingiu 4754 $\mu\text{m.g}^{-1}$, em contraposto está a cv. 'Royal Gala' apresentou o menor valor de 2148 $\mu\text{m.g}^{-1}$ em sua polpa. Serra (2010) ao estudar as maçãs tradicionais de Portugal observou variações de 761 $\mu\text{mol.TEAC.g}^{-1}$ (para a cv. 'Gala Galaxy') a 2236 $\mu\text{mol.TEAC.g}^{-1}$ (para a cv. 'Malápico Fino') entre as cultivares estudadas.

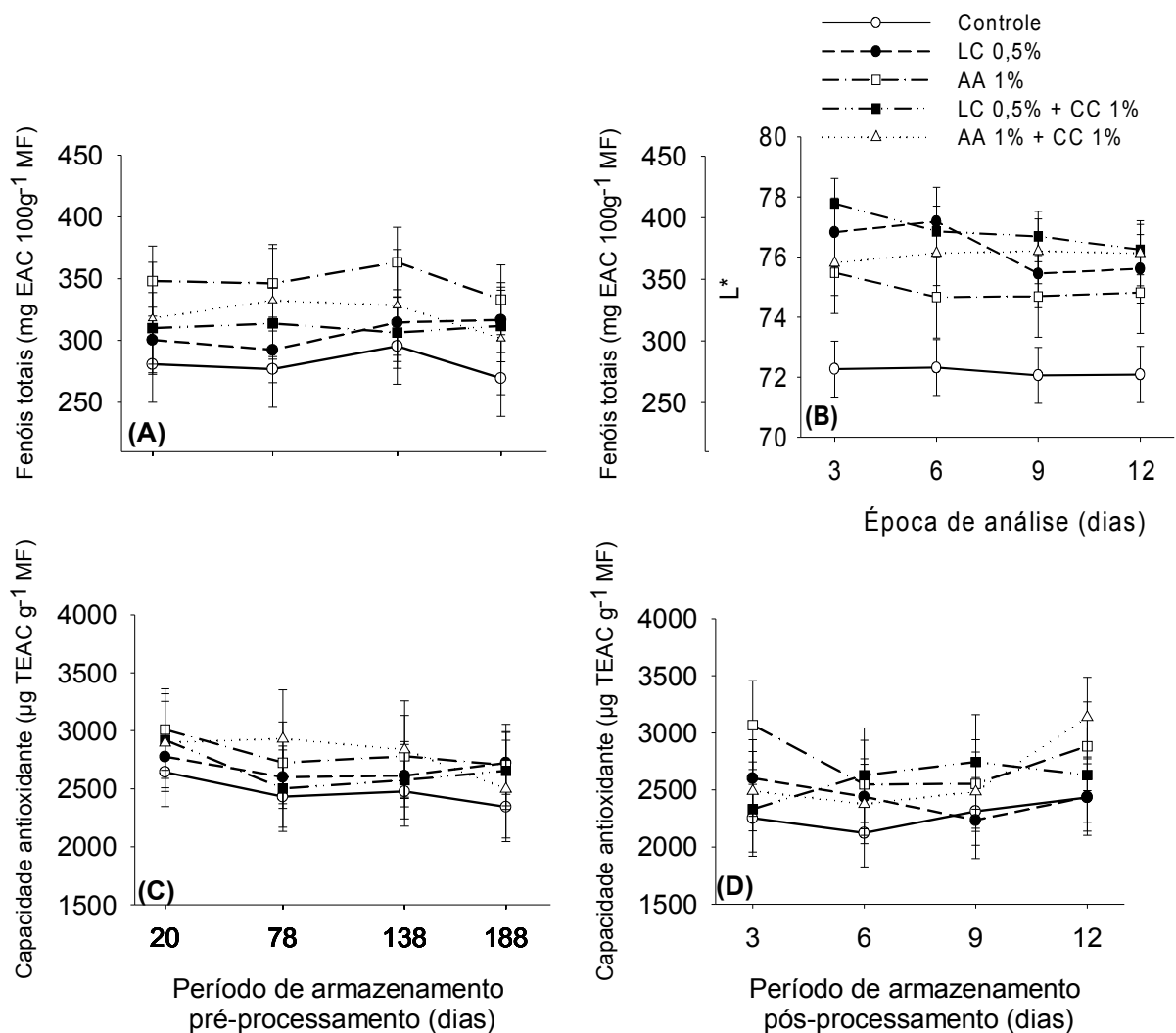


Figura 3 - Fenóis totais (mg EAC 100g⁻¹ MF - A e B) e capacidade antioxidante (µg TEAC g⁻¹ MF - C e D) de maçãs cv. Fuji submetidas a períodos de armazenamento pré-processamento (20, 78, 138 e 188 dias) e pós-processamento (3, 6, 9 e 12 dias), após minimamente processadas e tratadas com: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).

3.3.2 Análises microbiológicas

No Brasil, ainda não existe uma legislação específica para alimentos minimamente processados; seguem-se os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução RDC N°12/01 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), para frutos e/ou hortaliças “frescas, *in natura*, preparadas (descascadas,

selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto”.

Observa-se ao analisar dos dados deste trabalho que não houve diferença significativa para a presença de bactérias como *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp. e *Escherichia coli* nas maçãs cv. ‘Fuji’ minimamente processada durante as épocas de armazenamento (3, 6, 9 e 12 dias) bem como quanto este foram processados com matéria-prima oriunda dos períodos de armazenamentos (20, 78, 138 e 188 dias), quando foram tratadas com diferente coadjuvantes e com o controle. Não foi detectada a presença de bactérias do gênero *Salmonella* em nenhuma das amostras analisadas, estando assim de acordo com a legislação vigente. Com a ausência de tais micro-organismos indica que o processamento foi realizado em condições higiênico sanitárias adequadas. Estudos realizados por Santos *et al.* (2010) que visou avaliar as condições higiênico sanitárias de frutas e hortaliças minimamente processadas comercializadas no município de Campinas – SP também não detectaram a presença de bactérias do gênero *Salmonella*.

A presença de bactéria *Escherichia coli* (coliformes termotolerantes) foi determinada em todas as amostras não ultrapassando de 1×10^2 UFC.g⁻¹, sendo assim de acordo com a legislação brasileira RDC nº 12/2001 – ANVISA que estabelece contagem máxima de *E. coli* de 5×10^2 UFC.g⁻¹ (2,7 log UFC.g⁻¹) para frutas frescas, *in natura*, preparadas, sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto. A contagem de *Staphylococcus aureus* (coagulase positivos) em maçãs cv. ‘Fuji’ minimamente processada para todas as amostras avaliadas foi de $< 1 \times 10^2$ UFC.g⁻¹, valores estes encontrados considerados baixos e próprios para o consumo, pois o limite máximo permitido pelo Ministério as Saúde é de $10^3 \times$ UFC.g⁻¹ (BRASIL, 2001).

A contagem de coliformes totais para os minimamente processados de maçã cv. ‘Fuji’ foi superior ao limite da legislação que é de 5×10^2 UFC.g⁻¹ para o tratamento LC e AA+CC, como esta demonstrado na Tabela 1. Encontrando-se esse grupo de micro-organismos e na última avaliação microbiológica (12 dias), 7,5% das amostras contaminadas, para o tratamento 2 em que o processamento mínimo foi realizado com maçãs de 20 e 188 dias de armazenamento das maçãs pré-processadas, e para o tratamento 5 em que o processamento mínimo foi realizado com maçãs de 188 dias. Para ambos os casos observou-se um maior contagem dos

coliformes totais ao fim do armazenamento, simulando a vida de prateleira das maçãs minimamente processadas, por causa da pré-disposição da matéria-prima ao crescimento de micro-organismo, já que terá uma maior senescência e degradação ao longo do armazenamento. Outros autores como Meng *et al.*, (2012) ao estudar pimentões verdes minimamente processados e armazenados a 4°C também observaram um aumento na contagem de coliformes totais ao final de 12 dias em que o produto ficou armazenado. Observou-se também que nos períodos 2 e 4 o controle (água) também apresentou valores maiores que os demais períodos, podendo se dizer que pode ter havido um problema de contaminação cruzada do material ou lote de maçãs já contaminado.

Os dados de contagem de outras enterobactérias foram muito variáveis não seguindo nenhuma tendência (Tabela 1), mas ao longo da vida de prateleira se tem um aumento na contagem, com algumas exceções. Segundo Silva (2013) ao quantificar outras enterobactérias em pêssegos de polpa branca cv. 'Marfim' minimamente processados encontrou valores médios de 5050 UFC.g⁻¹ para o tratamento controle com 6 dias de armazenamento. Para os micro-organismos como bolores e leveduras de acordo com a legislação vigente os valores máximos são de 10⁴ UFC.g⁻¹ para frutas, produtos de frutas e similares (BRASIL, 2001). Com a contagem dos fungos e das leveduras, com base na legislação, afirma-se que 5% das amostras estão com valores superiores aos permitidos ao consumo humano (Tabela 1). Ao observar os dados presentes na Tabela 1 constata-se que os valores médios de contagem dos fungos filamentosos e leveduras aumentaram ao longo da vida de prateleira do produto minimamente processado de maçã (12 dias) e para os tratamentos LC 0,5% e AA 1% foram superiores ao limite da legislação, onde as maçãs foram minimamente processadas com 20 dias de armazenamento em câmara fria. Segundo Silva (2013) a contagem de fungos e leveduras em pêssegos de polpa branca cv. 'Marfim' minimamente processados e tratados com coadjuvantes variou de < 100 UFC.g⁻¹ a 3901 UFC.g⁻¹, valores similares encontrados neste trabalho.

Diversos fatores podem influenciar a qualidade final dos vegetais minimamente processados, como a qualidade da matéria-prima, as condições de cultivo e os produtos utilizados durante essa etapa, assim como o tempo e a temperatura em que o alimento é mantido em toda a cadeia produtiva até chegar ao consumidor final e ao maior teor de umidade contido nas embalagens fechadas.

3.3.3 Análise de Correlação

A correlação de Pearson existente entre os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante de maçãs cv. 'Fuji' minimamente processadas. Esta correlação foi realizada entre os tratamentos utilizados (T1, T2, T3, T4 e T5), entre os períodos de armazenamento dos frutos de maçãs íntegros (P1, P2, P3 e P4) e entre os dias de vida de prateleira das fatias de maçã (3, 6, 9 e 12 dias). Em relação às correlações, os resultados que foram significativos foram as variáveis compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante (DPPH), que evidenciaram o maior coeficiente de correlação positiva dentre as análises realizadas. Ao analisar a Tabela 2, observa-se que houve correlação entre os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante quando aplicados diferentes tratamentos coadjuvantes e quando utilizados maçãs armazenadas por diferentes períodos para realização do processamento mínimo, não havendo a correlação entre as épocas de armazenamento dos produtos minimamente processados.

Assim, quando ocorre aumento no teor de fenóis totais, igualmente é verificado acréscimo na capacidade antioxidante dos frutos. Nesse contexto, no período de 20 dias o maior coeficiente de correlação obtido foi no tratamento AA+CC ($r = 0,99$, $p = <0,0001$), seguido do tratamento AA ($r = 0,97$, $p = 0,0046$). Já, no segundo período (78 dias) a única correlação verificada foi no tratamento AA+CC ($r = 0,99$, $p = 0,0002$). Para o período de 138 dias todos os tratamentos tiveram o mesmo comportamento, ou seja, um elevado coeficiente de correlação (acima de 0,90) e todos significativos. Enquanto que no período de 188 dias o maior coeficiente de correlação foi o tratamento LC+CC ($r = 0,99$, $p = 0,0178$), secundamente o AA+CC e o AA como mostra na Tabela 2. Gil *et al.* (2002) encontraram correlação entre o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante de pêssegos, nectarinas e ameixas que ficaram armazenados a -80°C até o momento das análises. Kuskoski *et. al* (2005) constataram a mesma correlação, atribuindo os elevados valores de atividade antioxidante foram atribuídos aos compostos fenólicos. Zardo *et. al* (2009) também encontraram a mesma correlação positiva em maçãs 'Gala', 'Galaxy Gala' e 'Royal Gala'. O teor de compostos fenólicos totais aumentou paralelamente com a capacidade antioxidante destes produtos, esta correlação é devido ao elevado poder antioxidante que os compostos fenólicos apresentam.

Tabela 1 - Coliformes totais, *enterobactérias* e fungos (UFC g⁻¹) de maçãs cv. Fuji submetidas a períodos de armazenamento em câmara fria (20, 78, 138 e 188 dias) e épocas de análise, simulando vida de prateleira (3 e 6 dias), após minimamente processadas e tratadas com: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13.

Tratamentos	Épocas de análise (dias)							
	3				12			
	Períodos de armazenamento em câmara fria (dias)							
	20	78	138	188	20	78	138	188
Coliformes totais (UFC g ⁻¹) ^{2/}								
Controle	0aB*	200aA*	0 aB ^{ns}	0 aB*	7460 aA ^{1/}	0aC	160 aC	2920 cB
LC 0,5%	0aA*	0bA ^{ns}	0 aA ^{ns}	0 aA*	6000 bB	0aC	0 bC	9280 aA
AA 1%	0aA ^{ns}	0bA ^{ns}	0 aA ^{ns}	0 aA*	20 cB	0aB	0 bB	140 dA
LC 0,5% + CC 1%	0aA ^{ns}	0bA ^{ns}	0 aA ^{ns}	0 aA ^{ns}	0 cA	0aA	0 bA	0 dA
AA 1% + CC 1%	0aA ^{ns}	0bA ^{ns}	0 aA ^{ns}	0 aA*	0 cB	0aB	0 bB	5820 bA
Enterobactérias (UFC g ⁻¹)								
Controle	60aC*	4680aA*	360 aB ^{ns}	20 aC*	33620 aA	6020aC	240 D	8880 aB
LC 0,5%	0aB*	480bA*	100 cB*	100 aB*	620 bC	3060bB	440 C	5780 bA
AA 1%	0aB*	300bcA*	320 *	0 aB*	180 cC	460dAB	840 aA	220 C
LC 0,5% + CC 1%	0aB*	120cdA*	120 ^s	20 aAB ^{ns}	700 bA	660cA	80 B	0 dC
AA 1% + CC 1%	0aB*	60dA ^{ns}	0 cB ^{ns}	0 aB*	60 cB	100eAB	80 dB	280 cA
Fungos e Leveduras (UFC g ⁻¹)								
Controle	40bB*	22abB ^{ns}	88 aA*	16 cB*	3132 dA	28abD	296 cC	2160 aB
LC 0,5%	120aA*	44aB ^{ns}	44 aB*	86 aA*	45282 aA	32abD	240 cC	1004 bB
AA 1%	120aA*	32abC ^{ns}	76 *	48 bBC*	24090 bA	36aD	3396 aB	1964 aC
LC 0,5% + CC 1%	50bA*	28abA ^{ns}	34 aA ^{ns}	46 bA*	6648 cA	10bC	44 dC	530 cB
AA 1% + CC 1%	42bA*	8bB ^{ns}	42 aA*	48 bA*	3696 dA	14abD	1622 bB	364 dC

^{1/} Médias seguidas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) comparando os tratamentos, dentro de cada época, em cada período. Médias acompanhadas por mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) comparando os períodos, dentro de cada tratamento, em cada época. *,^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$) em função das épocas, dentro de cada tratamento, em cada período. ^{2/} UFC g⁻¹: unidades formadoras de colônias por grama de amostra.

Tabela 2 - Coeficientes de correlação de Pearson e valores de p entre fenóis totais (FT) e capacidade antioxidante (DPPH) de maçãs cv. Fuji minimamente processadas, considerando a interação entre os períodos de armazenamento em câmara fria (20, 78, 138 e 188 dias) e os tratamentos: controle, água destilada; cloreto de L-cisteína a 0,5% (LC 0,5%); ácido ascórbico a 1% (AA 1%); cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio (CC) a 1% (LC 0,5% + CC 1%) e ácido ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (AA 1% + CC 1%). Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2012/13.

Variáveis dependentes	20 dias									
	Controle		LC 0,5%		AA 1%		LC 0,5% + CC 1%		AA 1% + CC 1%	
	(1) FT	(2) DPPH	(1) FT	(2) DPPH	(1) FT	(2) DPPH	(1) FT	(2) DPPH	(1) FT	(2) DPPH
(1)	1	0,97505** (0,1425)*	1	0,86691 (0,0115)	1	0,97560 (0,0046)	1	0,87919 (0,0495)	1	0,99000 (<0,0001)
(2)		1		1		1		1		1
78 dias										
(1)	1	0,47040 (0,6882)	1	0,72442 (0,1663)	1	0,66220 (0,3378)	1	0,68543 (0,2015)	1	0,98753 (0,0002)
(2)		1		1		1		1		1
138 dias										
(1)	1	0,97823 (<0,0001)	1	0,97558 (<0,0001)	1	0,91077 (0,0044)	1	0,95172 (<0,0001)	1	0,98934 (<0,0001)
(2)		1		1		1		1		1
188 dias										
(1)	1	0,95895 (<0,0001)	1	0,94193 (<0,0001)	1	0,91649 (0,0005)	1	0,99961 (0,0178)	1	0,92024 (<0,0001)
(2)		1		1		1		1		1

** Coeficientes de correlação de Pearson. * valores de p .

3.4 Conclusão

O prolongamento do tempo de armazenamento das maçãs cv. 'Fuji' em atmosfera refrigerada promove um aumento da suscetibilidade ao escurecimento e amolecimento após o processamento a partir de 78 dias de armazenamento.

O uso de aditivos, no processo, contribuem para evitar esses problemas, principalmente quando se combina cloreto de L-cisteína a 0,5% com cloreto de cálcio a 1%, tendo uma boa conservação em prateleira refrigiada até 6 dias. Sob o aspecto microbiológico, permitiram classificar as maçãs minimamente processadas como toxicologicamente seguras, no entanto com relação aos coliformes totais, fungos e leveduras apontou-se um problema microbiológico.

3.5 Referências

ARAUJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 4. ed. Viçosa, SC: Ed. Universidade Federal de Viçosa, 2008. 596p.

BRACKMANN, A.; HUNSCHE, M.; STEFFENS, C. A. Conservação da maçã 'Fuji' sob diferentes temperaturas, umidades relativas e momentos de instalação da atmosfera de armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 81 - 84, jan./mar., 2000.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30. 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº 12**, de 02 de janeiro de 2001. In: Associação Brasileira das indústrias de alimento. **Compêndio de Legislação de Alimentos**. São Paulo, 2001.

CHAGAS, E. A.; CHAGAS, P. C.; PIO, R.; NETO-BETTIOL, J. E.; SANCHES, J.; CARMO, S. A.; CIA, P. PASQUAL, M.; CARVALHO, A. S. Produção e atributos de qualidade de cultivares de macieira nas condições subtropicais da região Leste paulista. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 10, p. 1764-1769, out., 2012.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manejo**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

COSTA, A. C. **Estudo de conservação de pêssego [*Prunus persica* (L.) Batsch] minimamente processado**. 2010. 79 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

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. 9, p. 1667-1673, set. 2011.

COSTA, A. F. S.; BALBINO, J. M. S. Características da fruta para exportação e normas de qualidade. In: FOLEGATTI, M. I. S.; MATSUUR A, F. C. A. U. (Ed.). *Mamão: pós-colheita*. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 12-18. 2002. (Série Frutas do Brasil, 21).

EISSA, H. A.; FADEL, H. H. M.; IBRAHIM, G. E.; HASSAN, I. M.; ELRASHID, A. A. Thiol containing compounds as controlling agents of enzymatic browning in some apple products. **Food Research International**, v. 39, p. 855–863, 2006.

FAGUNDES, C.; **Estudo cinético do processamento mínimo de maçã (*Malus domestica* B.) var. 'Gala': influência da temperatura na taxa respiratória e nos parâmetros físico-químicos e sensoriais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 116 p., Florianópolis, 2009.

FLURKEY, W.; JEN, J. Peroxidase and polyphenol oxidase actives in developing peaches. **Journal of Food Science**, Malden, v. 43, p. 1826-1831, 1978.

FONTES, L. C. B.; SARMENTO, S. B. S.; SPOTO, M. H. F.; DIAS, C. T. S. Conservação de maçã minimamente processada com o uso de películas comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 872-880, out.-dez. 2008.

FRIEDMAN, M.; BAUTISTA, F. F. Inhibition of polyphenoloxidase by thiols in the absence and presence of potato tissue suspensions. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 43, p. 69–76, 1995.

GIL, M. I.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A. A. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 4976– 4982, 2002.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. RUIZ-CRUZ, R., A.; RODRÍGUES-FÉLIX, AND C. Y.; Physiological and quality changes of fresh-cut pineapple treated with antibrowning agents. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, London, v. 37, n. 3, p. 369-376, May 2004.

GONZÁLEZ-BUESA, E.; ARIAS, E.; SALVADOR, M. L.; ORIA, R.; FERRER-MAIRAL, A. Suitability for minimal processing of non-melting clingstone peaches. **International Journal of Food Science and Technology**. Londrina, v. 46, p. 819 – 826, 2011.

GOODBURN, C.; WALLACE, C. A. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: A review. **Food Control**, Vurrey, v. 32, n. 2, p. 418-427, 2013.

GORNY, J. R. HESS-PIERCE, B.; CIFUENTES, R. A.; KADER, A. A.; Quality changes in fresh cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, n. 3, p. 271-278, Apr. 2002.

GOULARTE, V. D. S., ANTUNES, E. C., ANTUNES, P. L. Qualidade de maçã Fuji osmoticamente concentrada e desidratada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, p. 160-163, 2010.

GULARTE, J. P. A.; PEREIRA, M. C.; VIZZOTTO, M. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em produtos da cadeia produtiva da maçã. In: **XVI Congresso de Iniciação Científica da UFPEL**, Pelotas, 2007.

GUPTA, K. J.; ZABALZA, A.; VAN DONGEN, J. T. Regulation of respiration when the oxygen availability changes. **Physiologia Plantarum**, Country, v. 137, n. 4, p. 383-391, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Banco de dados agregados:** orçamentos familiares. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/orcfam/default.asp>>. Acesso em: 20 mai. 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadacco Pascuet e Paulo Tiglia – São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020. Versão eletrônica. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=7&func=selese&id=1&orderby=1&page=4>. Acesso em 11 mai. 2013.

JOHNSTON, J. W., HEWETT, E. W., HERTOOG, M. L. A. T. M., HARKER, F. R. Harvest date and fruit size affect postharvest softening of apple fruit. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Kent, v. 77, p. 355-360, 2002.

KARAMAN, S.; TUTEM, E.; BASKAN, K. S.; APAK, R. Comparison of the antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties. **Journal of the Science of Food Agriculture**. Washington, v. 93, n. 4, p. 867-875, 15 mar. 2013.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO J.; FETT R.. Aplicacion de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidant en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LAMIKANRA, O.; WATSON, M. A. Effects of Ascorbic Acid on Peroxidase and Polyphenoloxidase Activities in Fresh-Cut Cantaloupe Melon. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 9, p. 1283 – 1286, 2006.

LINHARES, L.A.; SANTOS, C.D.; ABREU, C.M.P; CORRÊA, A.D. Transformações químicas, físicas e enzimáticas de goiabas “Pedro Sato” tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e 1-metilciclopropeno e armazenadas sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.3, p. 829 – 841, 2007.

LUNA-GUZMÁN, I.; BARRET, D. M. Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 19, n. 1, p. 61-72, 2000.

MARTÍN, L.; BERNARDI, C.; GÜEMES, D.; PIROVANI, M.; PIAGENTINI, A. Evaluación de variedades de duraznos destinadas al mínimo procesamiento. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, México, v. 12, n. 1, p. 51 - 56, 2011.

MARTINS, R. N. **Processamento mínimo de pêssegos cv. 'Aurora-1': estádios de maturação, embalagens, temperaturas de conservação e aditivos naturais**. 2010. 145 p. Tese (Doutorado em Produção vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Federal Paulista, Jaboticabal.

MELO, A. A. M.; VILAS-BOAS, E. V. de B. Inibição do escurecimento enzimático de banana 'Maçã' minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 110-115, jan./mar. 2006.

MELO, A. A. M.; VILAS-BOAS, E. V. de B. Redução do amaciamento de banana 'Maçã' minimamente processada pelo uso de tratamentos químicos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 821-828, mai./jun. 2007.

MENG, X.; ZHANG, M.; ADHIKARI, B. Extending shelf-life of fresh-cut green peppers using pressurized argon treatment. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 71, p. 13 – 20, 2012.

MINOLTA. **Precise Color Communication: Color Control from Feeling to Instrumentation**. Osaka: MINOLTA Co. Ltda., 49 p. 1994.

MISHRA, B. B.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Browning of fresh-cut eggplant: Impact of cutting and storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 67 p. 44–51, 2012.

MOLNAR-PEARL, I.; FRIEDMAN, M. Inhibition of browning by sulfur amino acids: 3. apples and potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 38, n. 8, p. 1652-1656, 1990.

OMS-LIU, G.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 50, p. 87 – 94, 2008.

QI, H.; HU, W.; JIANG, A.; TIAN, M.; LI, Y. Extending shelf-life of Fresh-cut 'Fuji' apples with chitosan-coatings. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 12, p. 62 – 66, 2011.

ROCCULI, P.; GALINDO, F. G.; MENDOZA, F.; WADSO, L.; ROMANI, S.; ROSA, M. D.; SJOHOLM, I.; Effects of the application of anti-browning substances on the

metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 151-157, Jan. 2007.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; SOBRINO-LÓPEZ, A.; TAPIA, M. S.; MARTÍN-BELLOSO, O. Browning Inhibition in Fresh-cut 'Fuji' Apple Slices by Natural Antibrowning Agents. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 71, n. 1, p. 59–65. Jan. 2006.

[ROSSLE, C.](#); [WIJNGAARD, H. H.](#); [GORMLEY, R.T.](#); [BUTLER, F.](#); BRUNTON, N. Effect of storage on the polyphenols content of minimally processed skin-on apple wedges from ten cultivars and two growing seasons. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 58, n. 3, p. 1609-1614, 10 fev. 2010.

SANTOS, T. B. A.; SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; PEREIRA, J. L. Micro-organismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 13, n. 2, p. 141 – 146, 2010.

SAPERS, G.M.; MILLER, R.L. Browning inhibition in fresh-cut pears. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 63, n. 2, p. 342-346, 1998.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics, version 9.1**. Cary: SAS Institute, 2002.

SERRA, A. T. C. N. **Valorization of traditional Portuguese apples and cherries: biochemical characterization and development of functional ingredients**. March 2010. Dissertation presented to obtain a Ph.D degree in Engineering and Technology Sciences, Biotechnology at the Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Oeiras.

SILVA, M. M.; **Agentes coadjuvantes na preservação das características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de pêssego [*Prunus pérsica* (L.) Batsch] minimamente processado**. Dissertação (Mestrado em Ciência – Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, p. 95, Pelotas, 2013.

SIRIPHANIC, J.; KADER, A. A. Effects of CO₂ on total phenolics, phenyl alanine ammonia lyase and polyphenoloxidase in lettuce tissue. **Journal of American Society and Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 110, p. 249-253, 1985.

SUPAPVANICH, S.; PIMSAGA, J.; SRISUJAN, P. Physicochemical changes in fresh-cut wax apple (*Syzygium samarangense* [Blume] Merrill & L.M. Perry) during storage. **Food Chemistry**, Washington, v. 127, p. 912 – 917, 2011.

SWAIN, T.; HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. 1. The quantitative analysis of phenolic compounds. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

VIZZOTTO, M.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D. H. Large variation found in the phytochemical and antioxidant activity of peach and plum germplasm. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 132, n. 3, p. 334-340, 2007.

ZARDO, D. M.; DANTAS, A. P.; VANZ, R.; WOSISCKI, G.; NOGUEIRA, A. Intensity of red pigmentation in apples and its influence on phenolic compounds content and antioxidant activity. **Food Science and Technology**. Campinas, v. 29, n. 1, p. 148-154, Jan./mar. 2009.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

ABPM. **Associação Brasileira de Produtores de Maçã**. Imprensa Nacional e Internacional, n. 229, 2010. Disponível em: [http: <http://www.abpm.org.br>](http://www.abpm.org.br) . Acesso em: 20 ago. 2013.

AGAPOMI. **Associação Gaúcha dos Produtores de Maçã**. Disponível em: www.agapomi.com.br. Acesso em: 11 jul.2013.

ALVES, D. G. **Obtenção de acerola (Malpighia punicifolia L.) em passa utilizando processos combinados de desidratação osmótica e secagem**. 2003. 149p. Tese (Doutorado), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.

AMAP. **Associação dos Produtores de Maçã e Pêra de Santa Catarina**. Disponível em : www.amap-sc.com.br Acesso em: 20 ago. 2013.

ANDRADE JÚNIOR, V. C.; MALUF, W. R.; FARIA, M. V.; BENITES, F. R.; SANTOS JÚNIOR, A. M. Avaliação do potencial agrônômico e da firmeza pós-colheita de frutos em híbridos de tomateiro. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 489-502, 2001.

ANTONIOLLI, L. R.; BENEDETTI, B. C.; SOUZA FILHO, M. S. M.; BORGES, M. F. Efeito do hipoclorito de sódio sobre a microbiota de abacaxi 'Pérola' minimamente processado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 157-160, 2006.

ARAÚJO, F. M. M. C.; MACHADO, A. V.; VILAS BOAS, E. V. B.; CHITARRA, A. B. Caracterização de parede celular de melão minimamente processado armazenado sob atmosfera modificada. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, n. 2, p. 46-53, 2010.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos – Teoria e Prática**. 3ª Edição. Editora UFV. 2004. 478p.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1999. p. 319-329.

ARRUDA, M. C. Processamento mínimo de produtos hortícolas. Agência Paulista de Tecnologia dos agronegócios. **Pesquisa & Tecnologia**, Campinas, v. 7, n. 2, Jul-Dez, 2010.

ARRUDA, M. C.; JACOMINO, Â. P.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; MORETTI, C. L. Qualidade de melão minimamente processado armazenado em atmosfera modificada passiva. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, out.-dez., 2003.

ARUOMA, O.I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 9-20, p. 523-524, 2003.

ASIF, M. H.; PATHAK, N.; SOLOMOS, T.; TRIVEDI, P. K. Effect of low oxygen, temperature and 1-methylcyclopropene on the expression of genes regulating ethylene biosynthesis and perception during ripening in apple, **South African Journal of Botany**, Peitermaritzburg, v. 75, n. 1, p. 137-144, 2009.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114p.

BENDER, R. J. Botânica e fisiologia. In: **Manual da cultura da macieira**. Florianópolis: EMPASC, 1986. 562 p.

BERNARDI, J.; DENARDI, F.; HOFFMAN, A. Aspectos botânicos. In: NACHTIGALL, G. R. (Ed.). **Maçã: produção**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. cap. 3, p. 17-24. (Frutas do Brasil, 37).

BETT, K. L.; INGRAM, D. A.; GRIMM, C. C.; LLOYD, S. W.; SPANIER, A. M.; MILLER, J. M.; GROSS, K. C.; BALDWIN, E. A.; VINYARD, B. T. Flavor of fresh-cut gala apples in barrier film packaging as affected by storage time. **Journal of Food Quality**, Westport, v. 24, p. 141-156, 2001.

BOLIN, H. R.; HUXSOLL, C. C. Storage stability of minimally processed fruit. **Journal of Food Processing and Preservation**, Trumbull, v. 13, p. 281-292, 1989.

BONETTI, J. I. S.; CESA, J. D.; PETRI L. J.; HENTSCHEKE, R. **Cadeias produtivas do Estado de Santa Catarina: maçã**. Florianópolis: Epagri, 1999. 94p. (EPAGRI. Boletim Técnico, n.105).

BORGES JÚNIOR, L. Mercado atual e perspectivas para maçã. In: REUNIÃO SOBRE O SISTEMA DE PRODUÇÃO INTEGRADA DE MACIEIRA NO BRASIL, 1., Bento Gonçalves, 1998. **Anais**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 3-5. 1998.

BRACKETT, R. E. **Alteración microbiológica y microorganismos patógenos de frutas y hortalizas refrigeradas minimamente procesadas**. In: Willey, Robert. C. (Ed.). **Frutas e hortaliças minimamente processadas e refrigeradas**. Zaragoza: Acríbia, 1997. p. 263-304.

[BRACKMANN, A.](#) ; GIRARDI, C. L. ; [BENDER, R. J.](#) ; CARON FILHO, O. R. . **Armazenamento refrigerado**. In: César Luis Girardi. (Org.). Pós-colheita de maçãs. 1ed.Brasilia-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004, v. 3, p. 58-66

BRANDELLI, A.; LOPES, C.H.G.L. Polyphenoloxidase activity, browning potential and phenolic content of peaches during postharvest ripening. **Journal of Food Biochemistry**, Davis, v. 29, p. 624–637, 2005.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**. Campinas, v. 28, p. 25-30. 1995.

BRASIL. Governo do Estado de São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Instituto Adolfo Lutz (IAL). **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed, 1. ed digital. São Paulo, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº 12**, de 02 de janeiro de 2001. In: Associação Brasileira das indústrias de alimento. Compêndio de Legislação de Alimentos. São Paulo, 2001.

BRECHT, J. K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **Hortscience**. Wageningen, v. 30, p. 18-22, 1995.

BRECHT, J. K.; CHAU, K. V.; FONSECA, S. C.; OLIVEIRA, F. A. R.; SILVA, F. M.; NUNES, M. C. N.; BENDER, R. J. Maintaining optimal atmosphere conditions for fruits and vegetables throughout the postharvest handling chain. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 27, p. 87-101, 2003.

BURNS, J. K. Lightly processed fruits and vegetables: Introduction to the Colloquium. **HortScience**, Wageningen, v.30, n.1, p.14-17, 1995.

BUSCH, J.M. Enzymic browning in potatoes: a simple assay for a polyphenol oxidase catalysed reaction. **Biochemical Education**, Elmsford, v. 27, p.171-173, 1999.

BUTA, J. G.; MOLINE, H. E. Prevention of browning of potato slices using polyphenoloxidase inhibitors and organic acids. **Journal of Food Quality**, Wastport, v. 24, p. 271-282, 2001

CAMILO, A. P.; DENARDI, F. Cultivares: descrição e comportamento no sul do Brasil. In: A CULTURA da macieira. Florianópolis: Epagri, 2006. p. 113-168.

CANO, M.P.; ANCOS, B.; LOBO, G. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in papaya during postharvest ripening and after freezing/thawing. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 60, p. 815-820, 1995.

CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M.de. **Análises químicas de alimentos**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1990. 121p. (Manual Técnico)

CHITARRA, A. B. Qualidade, colheita e manuseio pós-colheita de frutos de pessegueiro e da ameixeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.18, n.189, p. 68-74, 1997.

CHITARRA, M. I. F. Colheita e qualidade pós-colheita de frutos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 179, p. 8-18, 1994.

CHITARRA, M. I. F. **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Viçosa: UFV, 1998. 88 p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. *Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio*. Lavras: UFLA, 2005. v. 1, 783 p.

CÓRDOVA, K.R.V. **Desidratação osmótica e secagem convectiva de maçã Fuji comercial e industrial**. 2006. 148 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Curitiba – PR.

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, 2011.

COSTA, S. M. **Conservação frigorífica de pêssegos ‘Tropic Beauty’ irradiados com e sem a utilização de permanganato de potássio**. 2008. 71 p. Dissertação – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu.

CRUMIÉRE, F. **Inhibition of enzymatic browning in food products using bio-ingredientes**. 2000. Thesis (Department of Food Science and Agricultural Chemistry), McGill University, Montreal.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stresse-induced phenylpropanoid metabolism. **The Plant Cell**, v. 7, p. 1085-1097, 1995.

DUDLEY, E. D.; HOTCHKISS, J. H. Cysteine as an inhibitor of polyphenol oxidase. **Journal of Food Biochemistry**, Connecticut, v. 13, n. 1, p. 65-75, Feb. 1989.

DURIGAN, J. F.; CASSARO, K. P. Hortaliças minimamente processadas. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v. 18, p. 159-161. 2000.

ELBE, J. H. von; SCHWARTZ, S. J. Colorantes. In: FENNEMA, O. R. (Dir.) **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acríbia, 2000. p. 587-588.

EPAGRI. **Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina**. Disponível em :<http://www.epagri.sc.gov.br/files/FRUTICULTURA_2009_2010.pdf> Acesso em: 03 mai. 2013.

FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura: fundamentos e práticas**. Pelotas: Editora UFPel, p. 311. 1996.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Faostat Database – Apples, total production (Mt), world, 2004**. Disponível em <<http://apps.fao.org/>> Acesso em 30 abr. 2013.

FAO. **FAOSTAT 2012**. Disponível em:<<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 10 jul. 2013.

FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. da C. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, p. 455-464, 2002.

FDA. **Food and Drug Administration**. Protecting and promoting your health. Disponível em: <<http://www.fda.gov/>>. Acesso em: 18 jul. 2013.

FILHO-CETNARSKI, R.; CARVALHO, R. I.N; MARTIN, V. C. Caracterização da maçã brasileira comercializada em Curitiba e região metropolitana. Revista Acadêmica: **Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 1, p. 21-27, jan./mar. 2008.

FIORAVANÇO, J. C.; GIRARDI, C. L.; CZERMAINSKI, A. B. C.; SILVA, G. A.; NACHTIGALL, G. R. OLIVEIRA, P. R. D. **Cultura da macieira no Rio Grande do Sul: análise situacional e descrição varietal**. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, Agosto, doc. 71, p. 61. 2010

FLURKEY, W.; JEN, J. Peroxidase and polyphenol oxidase actives in developing peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, p. 1826-1831, 1978.

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problem of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.80, p.1925-1941, 2000.

FUNAMOTO, Y.; YAMAGUCHI, N.; SHIGYO, M. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation in stored broccoli (*Brassica oleracea* L.) and inhibition of the activity by heat treatment. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 28, n.1, p. 39-46, 2003.

GIL, M. I.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A. A. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 4976-4982, 2002.

GIRNER, J.; ORTEGA, M.; MESEGUE, M.; GIMENO, V.; BARBOSA-CANOVAS, G. V.; MARTIN, O. Inactivation of peach polyphenoloxidase by exposure to pulsed electric fields. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 67, n. 4, p. 264-267, 2002.

GOMES, M. R. A.; OLIVEIRA, M. G. DE A.; CARNEIRO, G. E. S.; BARROS, E. G. DE; MOREIRA, M. A. propriedades físico-químicas de polifenoloxidase de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, p.69-72, 2001.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. RUIZ-CRUZ, R., A.; RODRÍGUES-FÉLIX, AND C. Y.; Physiological and quality changes of fresh-cut pineapple treated with antibrowning agents. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, London, v. 37, n. 3, p. 369-376, May 2004.

GORNY, J. R. HESS-PIERCE, B.; CIFUENTES, R. A.; KADER, A. A.; Quality changes in fresh cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, n. 3, p. 271-278, Apr. 2002.

GORNY, J. R.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A. A. Quality Changes in Fresh-cut Peach and Nectarine Slices as Affected by Cultivar, Storage Atmosphere and Chemical Treatments. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 64, n. 3, p. 429-432, 1999.

HAMPSON, C. R.; KEMP, H. Characteristics of important commercial apple cultivars. In: FERRE, D. C.; WARRINGTON, I.J. **Apples**: botany, production and uses. Wallingford: CABI Publishing, 2003. p. 61-89.

HARBONE, J.B. **Plant Biochemistry**. Academic Press. EUAIJ, p. 387-437, 1997.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Banco de dados agregados**: orçamentos familiares. 2010. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/orcfam/default.asp>>. Acesso em: 15 ago. 2013.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, Pesquisa Mensal de Previsão e Acompanhamento das Safras Agrícolas no Ano Civil**. 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201202.pdf>. Acesso em: 03 mai. 2013.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da produção Agrícola**: maçã. Julho de 2013. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201307.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2013.

IFPA. **International fresh-cut produce association**. Disponível em: <<http://www.fresh-cuts.org>>. Acesso em 09 de set, 2013.

IGLESIAS, I.; CARBÓ, J.; BONANY, J.; MONTSERRAT, R. Innovación varietal en manzano. **Fruticultura Profesional**, Barcelona, p. 13-30, 2009.

JACOMINO, A. P.; ARRUDA, M. C.; MOREIRA, R. C.; KLUGE, R. A. Processamento mínimo de frutas no Brasil. In: Simpósio “Estado actual Del mercado de frutos y vegetales cortados em Iberoamérica”, 2004, San José, Costa Rica. **Anais**. San José, 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**, Washington, v. 124, p. 444 – 449, 2011.

KAHN, V. Effect of proteins, protein hydrolyzates and amino acids on o-dihydroxyphenolase activity of polyphenoloxidase of mushroom, avocado and banana. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, p. 111-115, 1985

KARAKAYA, S. Bioavailability of Phenolic Compounds. **Food Science Nutrition**, Boca Raton, v. 44, n. 6, p. 453-64, 2004.

KAYS, J. S.; Postharvest physiology of perishables plant products, **Van Nostrand Reinhold**, New York, p. 335-407, 1991.

KE, D.; SALTVEIT, M. E. Jr. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. **Physiology Plantarum**. Copenhagen, v. 76, p. 412-418, 1989.

KEUTGEN, A.J.; PAWELZIK, E. Modifications of Strawberry fruit antioxidant pools and fruit quality under NaCl stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.55, n.10, p.4066- 4072, 2007.

KHAZAEI, N.; JOUKI, M.; JOUKI, A. Effects of modified atmosphere packaging on physico-chemical characteristics and sensory evaluation of bitter orange (*Citrus aurantium*). **Journal of Agricultural Sciences**, Indian, v 81, n. 11, p. 1014-1018, Nov. 2011.

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELLO, J. C.; BILHALVA, A. J. **Fisiologia e manejo pós colheita de frutas de clima temperado**. Pelotas: Editora Universitária UFPel, 1997, 163p.

KOMATSU, H. Red Fuji in Japan – choosing the best strain for your business strategy. **Compact Fruit Tree**, Middleburg, v. 31, n. 2, p. 44–45, 1998.

KRINSKY, N.I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, London, v. 66, p. 1003-1010, 1994.

KVITSCHAL, M. V.; DENARDI, F. Diversificação de cultivares de macieira: o desafio brasileiro. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 12., 2011, Fraiburgo. **Anais...** Florianópolis: EPAGRI, 2011, v. 1 (Palestras), p.151-165.

LAMIKANRA, O.; WATSON, M. A. Effects of Ascorbic Acid on Peroxidase and Polyphenoloxidase Activities in Fresh-Cut Cantaloupe Melon. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1283 – 1286, 2006.

LEE, C. Y. Enzymatic browning reaction. In: FRANCIS, F. J. **Encyclopedia of food science and technology**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 2000. v. 1, p. 208-218.

LÓPEZ-GÁLVEZ, F.; ALLENDE, A.; SELMA, M. V.; GIL, M. I. Prevention of *Escherichia coli* cross-contamination by different commercial sanitizers during washing of fresh-cut lettuce. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdã, v. 133, n. 1, p. 167-171, 2009.

LOVATTO, M.T.; BISOGNIN, D. A.; TREPTOW, R. O.; STORCK, L.; GNOCATO, F. S.; MORIN JUNIOR, G. Processamento mínimo de tubérculos de batata de baixo valor comercial. **Horticultura Brasileira**. Brasília, n. 30, p. 258-265, 2012.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. 2012. **Assessoria de Gestão Estratégica: Brasil projeções do agronegócio 2011/2012 a 2021/2022**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 19 jul. 2013.

MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v.6, p.195-200, 1995.

MARTINS, C. R.; CANTILLANO, R. F. F.; FARIAS, R. M.; ROMBALDI, C. V. Atividade polifenoloxidase e compostos fenólicos em pós-colheita de pêssegos cultivado em pomar com cobertura vegetal e cultivo tradicional. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, 2004.

MAZZAFERA, Paulo; GONCALVES, Kátia Viviane; SHIMIZU, Milton Massao. Extração e dosagem da atividade da polifenoloxidase do café. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, p. 695-700, 2002.

MELO, A. A. M.; VILAS BOAS, E. V. B.; JUSTO, C. F. Uso de aditivos químicos para a conservação pós-colheita de banana 'Maçã' minimamente processada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 228-236, jan./fev., 2009.

MELO, A. A. M.; VILAS-BOAS, E. V. de B. Inibição do escurecimento enzimático de banana 'Maçã' minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 110-115, jan./mar. 2006.

MELO, A. A. M.; VILAS-BOAS, E. V. de B. Redução do amaciamento de banana 'Maçã' minimamente processada pelo uso de tratamentos químicos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 821-828, maio/jun. 2007.

MOLNAR-PEARL, I.; FRIEDMAN, M. Inhibition of browning by sulfur amino acids: 3. apples and potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 38, n. 8, p. 1652-1656, 1990.

MOREIRA, R. C. **Processamento mínimo de tangor 'Murcott'**: caracterização fisiológica e recobrimentos comestíveis. 2004. 84p. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.

MORETTI, C. L. (Ed.). **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE, 2007. 531 p.

MOTA, F.S.; ALVES, E.G.P. Regiões edafoclimáticas preferenciais para a macieira no Rio Grande do Sul. **HortiSul**, v. 1, n. 3, p. 18-24, 1990.

NINFALI, P.; MEA, G.; GIORGINI, S.; ROCCHI, M.; BACCHIOCCA, M. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 93, n. 2, p. 257-66, 2005.

OMS-LIU, G.; SOLIVA-FORTUNY, R. MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 139-148, 2010.

PEREIRA, B. Importação: quem ganha, quem perde. **Frutas e Derivados**, São Paulo, v. 3, p. 18-25, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, p. 791-800, 2006.

PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; COUTO, M.; FRANCESCOTTO, P. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. especial, p. 48-56, 2011.

PILON, L. Embalagens utilizadas em produtos minimamente processados. In: FERREIRA, M.D. (Ed.). **Tecnologias pós-colheita em frutas e hortaliças**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2011, p. 257-269.

RAHMAN, S. M. E.; JIN, Y-G.; OH, D-H. Combination treatment of alkaline electrolyzed water and citric acid with mild heat to ensure microbial safety, shelf life and sensory quality of shredded carrots. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdã, v. 28, n. 3, p. 484-491, 2011.

RICHARD-FORGET, F. C.; GOUPY, P. M.; NICOLAS, J. J. Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 40, n. 11, p. 2.108-2.113, 1992

RICHARD-FORGET, F. C.; GOUPY, P. M.; NICOLAS, J. J. Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. 2. kinetic studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 40, n. 11, p. 2.108-2.113, 1992.

ROBERT, C.M.; CADET, F.R.; ROUCH, C.C.; PABION, M.; RICHARD-FORGET, F. Kinetic study of the irreversible thermal deactivation of palmito (*Acanthophoenix rubra*) polyphenol oxidase and effect of Ph. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.43, n.11, p.1143-1150, 1995.

ROCCULI, P.; GALINDO, F. G.; MENDOZA, F.; WADSO, L.; ROMANI, S.; ROSA, M. D.; SJOHOLM, I.; Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 151-157, Jan. 2007.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; SOBRINO-LÓPEZ, A.; TAPIA, M. S.; MARTÍN-BELLOSO, O. Browning Inhibition in Fresh-cut 'Fuji' Apple Slices by Natural Antibrowning Agents. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 71, n. 1, p. 59-65. Jan. 2006.

ROLLE, R. S. (Ed.). **Processing of fresh-cut tropical fruits and vegetables: a technical guide**. Bangkok: FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010. 86 p. (RAP publication 2010/16). Autoria: Jennylynd B. James, Tipvanna Ngarmsak.

ROLLE, R.; CHISM, G. W. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**. Wastport, v. 10, p. 157–165, 1987.

ROMBALDI, C. V.; TIBOLA, C. S.; FACHINELLO, J. C.; SILVA, J. A. Percepção de consumidores do Rio Grande do Sul em relação a quesitos de qualidade em frutas/ Perception of Rio Grande do Sul consumers about fruit quality questions. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 681-684, 2007.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, Campinas, v.8, p.121-137, 2002.

SAPERS, G. M. Chitosan enhances control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration. **Food Technology**, Chicago, v. 47, p. 75-84, 1993.

SAPERS, G. M.; HICKS, K. B. Inhibition FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Chemical preservatives. In:____. **Code of federal regulations**. Washington, DC: U.S. GPO, 1986. Title 21, part 182, part 101.

SAPERS, G. M.; MILLER, R. L. Browning inhibition in fresh-cut pears. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 63, n. 2, p. 342-346, 1998.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ALVES, R. V.; OLIVEIRA, L. M.; GOMES, T. **Embalagens com atmosfera modificada**. Campinas: CETEA/ITAL, 114p., 1998

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; TELES, C. S.; COPPELMANS, S. A. Efeitos da embalagem e da temperatura de estocagem na qualidade de couve minimamente processada. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 185-190, 2003.

SCHLIMME, D. V. Marketing lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Mount Vernon, v. 30, n. 1, p. 15, 1995.

SEVERO, J., TIECHER, A., CHAVES F.C., SILVA, J.A., ROMBALDI, C.V. Gene transcript accumulation associated with physiological and chemical changes during developmental stages of strawberry cv. Camarosa. **Food Chemistry**, Washington, v. 126, p. 995-1000, 2011.

SHEWFELT, R. L. Quality of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, Wastport, v. 10, p. 143-156, 1987.

SILVA, M. M.; **Agentes coadjuvantes na preservação das características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de pêssego [*Prunus pérsica* (L.) Batsch] minimamente processado**. Tese (Mestrado em Ciência – Ciência e

Tecnologia Agroindustrial), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, p.95, Pelotas, 2013.

SILVA, S. **Frutas no Brasil**. São Paulo. Ed. Empresa das Artes, p. 169-171. 1996.

SILVA, V. V.; SOARES, N. F. F.; GERALDINE, R. M. Efeito da embalagem e temperatura de estocagem na conservação de mandioca minimamente processada. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 197-202, 2003.

SIRIPHANIC, J.; KADER, A. A. Effects of CO₂ on total phenolics, phenyl alanine ammonia lyase and polyphenoloxidase in lettuce tissue. **Journal of American Society and Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 110, p. 249-253, 1985.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p. 260, 2002.

SWAIN, T.; HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. 1. The quantitative analysis of phenolic compounds. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 4.ed. p.819, 2009.

TORNUK, F.; CANKURT, H.; OZTURK, I.; SAGDIC, O.; BAYRAM, O.; YETIM, H. Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on fresh CUT carrots and apples. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 148, n. 1, p. 30-35, 2011.

TUCKER, G.A. Introduction. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. (Ed.). **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993. p.2-51.

USHIROZAWA, K. **A cultura da maçã**. Florianópolis: EMPASC, 1978. 295p.

VANETTI, M.C. D. Segurança microbiológica em produtos minimamente processados. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MINIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 3., 2004. Viçosa- MG. Palestras, resumos e oficinas... Viçosa. UFV, 2004. p.30-32.

VIEITES, R. L.; EVENGELISTA, R. M.; LIMA, L. C.; MORAES, M. R.; NEVES, L. C. Qualidade do melão 'Orange Flesh' minimamente processado armazenado sob atmosfera modificada. **Ciências Agrárias**. Londrina, v. 28, n.3, p.409-416, 2007.

VILAS-BOAS, E. V. de B.; KADER, A. A. Effect of atmospheric modification, 1-MCP and chemicals on quality of fresh-cut banana. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 39, p. 155-162, 2006.

WATADA, A. E.; ABE, K.; YAMAUCHI, N. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Technology**, Champaign, v. 44, n. 5, p. 116-122, 1990

WHITAKER, J. R.; LEE, C. Y. Recent advances in chemistry of enzymatic browning. In: _____ (Ed.). **Enzymatic browning and its prevention**. Washington: American Chemical Society, 1995. p. 2-7.

WILEY, R. C. **Frutas y hortalizas minimamente procesadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 1997, 362 p.

WILEY, R. C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. London: Chapman & Hall, 1994. 357 p.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N.C.C.; DENARDI, F.; CAMILO, A.P. Apple varieties growing in subtropical areas – The situation of Santa Catarina – Brazil. **Fruit Processing**, Schönborn, v. 12, n. 1, p. 19-28, jan. 2002.

YOSHIDA, Y., FAN, X.; PATTERSON, M. The 'Fuji' apple. In: FERREE, D.C. (Ed.). **A history of fruit varieties**. Yakima: Good Fruit Grower Magazine, 1998. p. 137–141.

ZAMBIAZI, R.; **Apostila de química bromatológica I**:Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 97p. 2004.