

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA**

**MARIA CRISTINA COPELLO ROTILI**

**RESPOSTAS BIOQUÍMICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO  
MARACUJÁ-AMARELO DURANTE ARMAZENAMENTO EM ATMOSFERA  
MODIFICADA E EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

**Marechal Cândido Rondon**

**2012**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA**

**MARIA CRISTINA COPELLO ROTILI**

**RESPOSTAS BIOQUÍMICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO  
MARACUJÁ-AMARELO DURANTE ARMAZENAMENTO EM ATMOSFERA  
MODIFICADA E EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Costa Braga.

**Marechal Cândido Rondon**

**2012**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM AGRONOMIA**  
**NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO**

**MARIA CRISTINA COPELLO ROTILI**

**RESPOSTAS BIOQUÍMICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO**  
**MARACUJÁ-AMARELO DURANTE ARMAZENAMENTO EM ATMOSFERA**  
**MODIFICADA E EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

Dissertação apresentada como pré-requisito de conclusão de curso de Mestrado da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Marechal Cândido Rondon, 31 de agosto de 2012.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Gilberto Costa Braga  
Orientador

---

Prof. Dr. Odair José Kuhn

---

Prof. Dr. Edmar Clemente

## DEDICATÓRIA

*Á Deus,  
que na sua infinita bondade e misericórdia me deu forças para  
superar as barreiras da vida e conquistar meus objetivos. Em especial  
ao maior presente de Deus “minhas filhas” Bibiana e Carina, aos  
meus amados e queridos pais, José Luiz e Tereza pelo incentivo que  
me proporcionaram.*

*Dedico também:*

*À meu esposo Celso Rotili,  
pelo apoio, compreensão, amor, carinho e atenção que tem me  
dedicado todos esses anos juntos, e também por ser um grande  
incentivador e motivador das minhas realizações.*

## AGRADECIMENTOS

À DEUS, por permitir essa conquista.

À família Bibiana e Carina, (filhas), Celso (esposo) e aos meus pais José Luiz e Tereza pela torcida que tanto me estimulou nessa jornada.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À APROCOR – pela disponibilidade de atender e comercializar o maracujá.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gilberto Costa Braga, pela oportunidade e orientação.

Aos professores Dr. Odair José Kuhn e Dr. Newton Tavares Escocard de Oliveira pelo auxílio e co-orientação deste trabalho.

Aos muitos companheiros de caminhada no laboratório, colegas, discentes, amigos (as): Fabiane Karine Barp, Diego Ricardo Stumm, Jessica Ariane Vorpapel, Fernanda Jacobus de Moraes, Fernando Furlan, Marcos Vinicius Mansano Sarto, Sidiane Coltro, Viviane Marcela Celant, Laline Broetto, Jucenei Fernando Frandoloso (Nei do laboratório de Solos). Sucesso para todos.

Aos colegas da turma de mestrado e amigos que nasceram nas horas de estudo e nas dificuldades que passamos Fernanda Rubio, Fabiane Cristina Gussatto, Rogério Lopez Estevez, Ana Paula Sartorio Chambo e Salvador Antonio Sarto. Chegou a nossa vez.

Aos amigos de morada Franciele e Alex Vogt saudades das nossas conversas.

Aos amigos de longe José Carlos Verle Rodrigues e Raquel Engel obrigada pela torcida.

Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia em especial a grande companheira Cristiane Claudia Meinerz e Prof. Dr. Gilmar Franzener pela ajuda e ensinamentos.

A todos os professores e funcionários da UNIOESTE - Campus Marechal Cândido Rondon. Especialmente a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Adriana Maria de Grandi, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Regina Conceição Garcia, Prof. Dr. Edmar Soares de Vasconcelos (na ajuda da estatística) e Prof. Dr. Wilson João Zonin, por providenciar o material de estudo.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Glaucia Cristina Moreira pela ajuda na metodologia da atividade antioxidante.

A todos os que contribuíram para a realização deste trabalho, na “torcida contra ou a favor”, não citados e ou por vezes não lembrados, nunca menos importantes. MUITO OBRIGADA.

*“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”.*

*Cora Coralina*

## RESUMO

### RESPOSTAS BIOQUÍMICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO MARACUJÁ-AMARELO DURANTE ARMAZENAMENTO EM ATMOSFERA MODIFICADA E EM DIFERENTES TEMPERATURAS

O maracujá-amarelo é um fruto climatérico e na fase pós-colheita sofre importantes transformações fisiológicas decorrentes do próprio metabolismo de maturação e de outros estresses oxidativos. As condições de armazenamento do maracujá estabelecem fator determinante para sua conservação. A refrigeração e a atmosfera modificada têm sido largamente utilizadas em frutos, e o maracujá-amarelo se apresenta muito promissor no uso dessas técnicas, devido à elevada instabilidade de suas características físicas e fisiológicas pós-colheita. Assim, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar as respostas bioquímicas, físico-químicas e microbiológicas do maracujá-amarelo durante o seu armazenamento em atmosfera modificada e em diferentes temperaturas. O trabalho foi dividido em dois experimentos: O primeiro constou da avaliação do efeito da temperatura de armazenamento, onde os frutos foram armazenados em temperatura de 5° e 24°C. E no segundo experimento foi avaliado o efeito da atmosfera modificada durante o armazenamento dos frutos a 5 °C. Em ambos os experimentos as avaliações ocorreram em intervalo de 10 dias durante 40 dias, sendo avaliada a atividade antioxidante DPPH e TEAC, os teores de compostos fenólicos totais, β-caroteno e ácido ascórbico e a qualidade física e microbiológica dos frutos. No segundo experimento foram incluídas as avaliações de acidez total titulável, sólidos solúveis totais e a atividade enzimática para polifenoloxidase e peroxidase. Em ambos os experimentos, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os resultados mostraram que os compostos fenólicos totais, β-caroteno e atividade antioxidante do suco do maracujá-amarelo não foram influenciados pela temperatura de armazenagem e o conteúdo de compostos fenólicos totais do suco aumentou com o tempo de armazenagem. Os efeitos da elevada temperatura durante o armazenamento foram muito mais evidentes na aparência do fruto do que na qualidade nutricional do suco. A atividade antioxidante do suco, expressa em sequestro do radical DPPH, diminuiu durante o armazenamento, independente da temperatura. Nas condições do armazenamento a 5 °C e em atmosfera normal, a vida-de-prateleira do maracujá-amarelo foi superior e se estendeu até 20 dias em boas condições de comercialização. O uso da atmosfera modificada não foi capaz de reduzir as perdas de atividade antioxidante do suco do maracujá-amarelo, durante o seu armazenamento. Compostos fenólicos totais e ácido ascórbico também não foram influenciados pelo uso da atmosfera modificada. Até 30 dias de armazenamento houve efeito supressor da atividade de patógenos similarmente nas duas atmosferas de armazenagem, sugerindo que este efeito esteve mais relacionado à baixa temperatura. Aos 40 dias de armazenamento a atmosfera modificada foi mais eficiente em inibir a atividade de patógenos. A atmosfera modificada foi eficaz na redução da perda de massa fresca e do enrugamento da casca, ficando evidente a alta sensibilidade dos frutos à alterações envolvendo a perda de água e a importância do uso da atmosfera modificada na manutenção da sua qualidade física. Sólidos solúveis totais e acidez total titulável diminuíram durante o armazenamento e a atmosfera modificada não influenciou estes resultados. O uso da atmosfera modificada durante o armazenamento a 5 °C proporcionou condições ótimas para comercialização do maracujá-amarelo até 20 dias. Este estudo revelou a existência de atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase na casca do maracujá-amarelo, mas não foram identificadas no suco do fruto.

**Palavras-chave:** *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* deg; pós-colheita; conservação; atividade antioxidante; compostos antioxidantes.



## ABSTRACT

### **BIOCHEMICAL, PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL RESPONSES OF YELLOW PASSION FRUIT DURING STORAGE IN MODIFIED ATMOSPHERE AND DIFFERENT TEMPERATURES**

The passion fruit is a climacteric fruit and at the phase of the Post harvest suffers important physiological transformations resulting of its own metabolism of ripening and others oxidative stress. The storage conditions of the passion fruit establish determining factor for its conservation. The refrigeration and modified atmosphere have been widely used in fruits, and the yellow passion fruit appears very promising in the use of these techniques, due to high instability of its physical and physiological characteristics post harvest. Therefore, this study was conducted with the objective of to evaluate the biochemical, physicochemical and microbiological of the passion fruit during its storage in modified atmosphere and at different temperatures. The work was divided into two experiments: The first consisted of the evaluation of the effect of storage temperature, where the fruits were stored at 5 ° and 24 °C. And in the second experiment evaluated the effect of modified atmosphere during the storage of the fruits at 5 °C. In both experiments the evaluations occurred at intervals of 10 days for 40 days, being evaluated the antioxidant activity DPPH and TEAC, the content of total phenolic compounds,  $\beta$ -carotene and ascorbic acid, and physical and microbiological quality of the fruits. In the second experiment were included assessments of total titratable acidity, total soluble solids and enzymatic activity for polyphenol oxidase and peroxidase. In both experiments, it was utilized a completely randomized delineation, with five repetitions. The results showed that the total phenolic compounds,  $\beta$ -carotene and antioxidant activity of passion fruit juice were not affected by storage temperature and the content of total phenolic compounds of the juice increased with storage time. The effects of high temperature during storage were more evident in the appearance of the fruit than at the nutritional quality of the juice. The antioxidant activity of the juice, expressed in kidnapping DPPH radical, decreased during the storage, independent of temperature. Under the conditions of storage at 5 °C and normal atmosphere, the shelf-life of passion fruit was higher and lasted up to 20 days in good conditions of marketing. The use of modified atmosphere was not able to reduce the losses of antioxidant activity of passion fruit juice during its storage. Total phenolics compounds and ascorbic acid were not affected by the use of modified atmosphere. Up to 30 days of storage there was suppressive effect of the activity of pathogens similarly in the two atmospheres of storage, suggesting that this effect was more related to low temperature. At 40 days of storage the modified atmosphere was more effective in inhibiting the activity of pathogens. The modified atmosphere was effective in reducing fresh mass loss and wrinkling of the rind, evidencing the high sensitivity of the fruit changes involving the loss of water and the importance of the use of modified atmosphere in maintaining their physical quality. Total soluble solids and total titratable acidity decreased during the storage and the modified atmosphere did not affect these results. The use of modified atmosphere during the storage at 5° C provided great conditions for marketing the yellow passion fruit up to 20 days. This study revealed the existence of activities of the polyphenoloxidase and peroxidase enzymes in the yellow passion fruit rind, but they were not identified in the fruit juice.

**Keywords:** *Passiflora edulis f. flavicarpa* deg; post harvest; conservation; antioxidant activity; antioxidant compounds

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Rotas de produção dos compostos fenólicos: rota do ácido chiquímico e do ácido malônico .....	25
Figura 2 – Compostos fenólicos a partir da fenilalanina .....	27
Figura 3 – Estrutura química geral de um flavonoide: dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C) .....	29
Figura 4 – Estrutura da molécula de $\beta$ -caroteno.....	30
Figura 5 – Estrutura da molécula do ácido L ascórbico e do ácido dehidroascórbico .....	31
Figura 6 – Atividade antioxidante DPPH (a) e TEAC (b) do suco do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. As linhas verticais representam o desvio padrão (n=5). Na figura a, EAA = equivalente ácido ascórbico .....	51
Figura 7 – Perda de massa fresca (a) e índice de enrugamento (b) do fruto do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. As linhas verticais representam o desvio padrão (n=5). No índice de enrugamento, 1= casca totalmente lisa; 2= mais lisa do que enrugada, 3= porções de casca igualmente lisa e enrugada; 4=mais enrugada do que lisa; 5= totalmente .....	53
Figura 8 – Índice de cor da casca (a) e índice de degradação patogênica (b) do fruto do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. Na Figura a, índice de cor varia de 1 (100% da casca verde) até 5 (100% amarela) e as linhas verticais representam o desvio padrão (n=5). Na Figura b, os valores observados são calculados de 10 frutos.....	55
Figura 9 – Compostos fenólicos totais do suco do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. As linhas verticais representam o desvio padrão (n=5) .....	57
Figura 10 – Conteúdos de $\beta$ -caroteno (a) e ácido ascórbico (b) do suco do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. As linhas verticais representam o desvio padrão (n=5) .....	58
Figura 11 – Composição antioxidante do suco do maracujá-amarelo armazenado a 5 °C e em atmosfera modificada e normal. DMS = diferença mínima significativa. (n = 5).....	72
Figura 12 – Atividade antioxidante DPPH (a) e TEAC (b) do suco do maracujá-amarelo armazenado a 5 °C e em atmosfera modificada e normal.....	75
Figura 13 – Índice de degradação por patógeno do fruto do maracujá-amarelo durante armazenamento a 5°C e em atmosfera modificada e normal .....	76

Figura 14 – Perda de massa fresca (a), enrugamento (b) e cor (c) do maracujá-amarelo armazenado a 5 °C e em atmosferas modificada e normal .....	78
Figura 15 – Acidez total titulável (a) e sólidos solúveis totais (b) do suco do maracujá-amarelo armazenado a 5 °C e em atmosferas modificada e normal .....	80
Figura 16 – Mobilidade relativa de polifenoloxidase do suco (A) e da casca (B) do maracujá-amarelo em eletroforese de gel de poliacrilamida .....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o esqueleto básico.....	28
Tabela 2 – Coeficientes de significância da análise de variância para os efeitos da temperatura (5 e 24 °C) e tempo de armazenamento (até 20 dias) do maracujá-amarelo .....	50
Tabela 3 – Coeficientes de correlação linear de Pearson para as combinações entre as variáveis químicas e físicas do maracujá-amarelo durante o armazenamento .....	52
Tabela 4 – Coeficientes de correlação linear de Pearson para as combinações entre as variáveis químicas e físicas do maracujá-amarelo durante o armazenamento .....	73

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1 O Maracujá-Amarelo .....</b>	<b>18</b>
<b>2.2 Botânica .....</b>	<b>19</b>
<b>2.3 Características Físico-Químicas e Nutricionais .....</b>	<b>19</b>
<b>2.4 Conservação Pós-Colheita do Maracujá .....</b>	<b>20</b>
2.4.1 Armazenamento refrigerado .....	21
2.4.2 Armazenamento com atmosfera modificada .....	22
<b>2.5 Propriedades Antioxidantes .....</b>	<b>23</b>
2.5.1 Compostos fenólicos .....	24
2.5.2 $\beta$ -caroteno .....	29
2.5.3 Ácido ascórbico .....	30
<b>2.6 Características Físico-Químicas .....</b>	<b>31</b>
2.6.1 Perda de massa .....	31
2.6.2 Acidez titulável.....	31
2.6.3 Cor da casca.....	32
2.6.4 Sólidos solúveis totais .....	32
<b>2.7 Atividade Enzimática .....</b>	<b>33</b>
<b>2.8 Patologia Pós-Colheita .....</b>	<b>34</b>
<b>2.9 Referências .....</b>	<b>35</b>
<b>3 EXPERIMENTOS 1 - COMPOSIÇÃO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E QUALIDADE DO MARACUJÁ-AMARELO DURANTE ARMAZENAMENTO .....</b>	<b>45</b>
<b>3.1 Introdução .....</b>	<b>45</b>
<b>3.2 Material e Métodos .....</b>	<b>46</b>
3.2.1 Obtenção e preparo dos frutos .....	46
3.2.2 Armazenamento e amostragem .....	46
3.2.3 Compostos fenólicos totais.....	47
3.2.4 $\beta$ -caroteno .....	47
3.2.5 Ácido ascórbico .....	48
3.2.6 Atividade antioxidante.....	48
3.2.6.1 Obtenção do extrato.....	48

3.2.6.2 Método DPPH .....	48
3.2.6.3 Método TEAC ('Trolox Equivalent Antioxidant Capacity') .....	48
3.2.7 Qualidade física .....	49
3.2.8 Índice de degradação patogênica .....	49
3.2.9 Análise estatística .....	50
<b>3.3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>50</b>
3.3.1 Atividade antioxidante.....	51
3.3.2 Qualidade física .....	53
3.3.3 Compostos antioxidantes .....	56
<b>3.4 Conclusões .....</b>	<b>60</b>
<b>3.5 Referências .....</b>	<b>60</b>
<b>4 EXPERIMENTO 2 - RESPOSTA BIOQUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO MARACUJÁ-AMARELO DURANTE ARMAZENAMENTO EM ATMOSFERA MODIFICADA.....</b>	<b>64</b>
<b>4.1 Introdução .....</b>	<b>64</b>
<b>4.2 Material e Métodos.....</b>	<b>66</b>
4.2.1 Amostra .....	66
4.2.2 Armazenamento.....	66
4.2.3 Atividade antioxidante.....	67
4.2.3.1 Obtenção do extrato.....	67
4.2.3.2 Método DPPH .....	67
4.2.3.3 Método TEAC ('Trolox Equivalent Antioxidant Capacity') .....	67
4.2.4 Compostos fenólicos totais.....	68
4.2.5 $\beta$ -caroteno .....	68
4.2.6 Ácido ascórbico .....	68
4.2.7 Índice de degradação patogênica.....	69
4.2.8 Qualidade físico-química.....	69
4.2.9 Atividade enzimática por eletroforese em gel .....	70
4.2.9.1 Preparo do gel de poliacrilamida .....	70
4.2.9.2 Eletroforese de isoenzimas para PFO e POX .....	70
4.2.10 Análise estatística .....	71
<b>4.3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>71</b>
4.3.1 Compostos antioxidantes .....	71
4.3.2 Atividade antioxidante.....	74

4.3.3 Qualidade microbiológica.....	76
4.3.4 Características físicas .....	77
4.3.5 Acidez titulável e sólidos solúveis.....	79
4.3.6 Atividade enzimática .....	81
4.3.6.1 Atividade de polifenoloxidase (PFO) e peroxidase (POX) .....	81
4.3.6.2 Eletroforese em gel de poliacrilamida para PFO e POX.....	81
<b>4.4 Conclusões .....</b>	<b>82</b>
<b>4.5 Referências .....</b>	<b>83</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) é a espécie de *Passiflora* mais cultivada no Brasil e muito apreciada pelo aroma e sabor intensos do seu suco. É originária da América tropical e o Brasil é o maior produtor mundial deste fruto (GONÇALVES e SOUZA, 2006). Trata-se de um fruto muito cultivado e explorado em todo o território brasileiro, destacando-se as regiões Nordeste, Sudeste e Norte do país. Em 2010, a produção nacional foi de aproximadamente 664.000 toneladas, com área cultivada correspondente a 47.032 hectares (IBGE, 2010).

A composição química do suco do maracujá-amarelo é caracterizada pela presença de substâncias voláteis e não-voláteis, as quais definem seus atributos sensoriais e nutricionais. Com relação à fração não-volátil, os frutos são ricos em minerais, vitaminas (LIMA, 2002), compostos fenólicos (TALCOTT et al., 2003) e carotenoides (SOUZA et al., 2004). Tais compostos são sintetizados por vias metabólicas durante o desenvolvimento e maturação do fruto com diferentes funções bioquímicas e físicas no órgão, participando em mecanismos de defesa, atratividade e como antioxidantes (KADER, 2002; CHITARRA e CHITARRA, 2005).

A presença de  $\beta$ -caroteno no maracujá-amarelo é responsável pela cor amarelada típica do suco (UENOJO; MARÓSTICA-JUNIOR; PASTORE, 2007). O acúmulo de vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides nos frutos é variável e depende do estágio de maturação e das condições de armazenamento, entre outros fatores (VERBERIC; COLARIC; STAMPAR, 2008).

O consumo de frutas tropicais tem aumentado em nível nacional e internacional devido ao crescente reconhecimento de seu valor nutricional e terapêutico. Neste aspecto, tem sido dado grande destaque a atividade antioxidante de compostos presentes nas frutas, por possuírem potencial de reduzir o nível de estresse oxidativo celular (RUFINO et al., 2010; HASSIMOTTO; COLARIC; STAMPAR, 2005). Segundo Pietta (2000) os antioxidantes são substâncias que reduzem o dano oxidativo das células, bloqueando os radicais livres e prevenindo a formação de algumas doenças. A capacidade antioxidante tem sido expressa utilizando diferentes metodologias *in vitro*, incluindo, entre outras, a capacidade sequestradora de radicais peróxil (ORAC- *oxygen radical absorbance capacity*), capacidade de redução do metal (FRAP-*ferric reducing antioxidant power*), capacidade sequestradora de radical orgânico (ABTS-2,2'-*azino-bis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)*) e capacidade sequestradora do radical oxidante DPPH (2,2-*diphenyl-1-picrylhydrazyl*) e, pelo menos dois



desses ensaios (ou mesmo todos), devem ser combinados para prover uma análise confiável da capacidade antioxidante total em uma matriz alimentícia (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008).

Na fase pós-colheita o maracujá pode sofrer diversas e importantes alterações; decorrentes de estresses oxidativos bióticos e abióticos, que interferem nas suas características físico-químicas e nutricionais. Depois do seu desligamento da planta, o maracujá-amarelo se predispõe a uma rápida desidratação do pericarpo acompanhada de murchamento, caracterizando a principal alteração pós-colheita do fruto, com depreciação da sua qualidade comercial (DURIGAN et al., 2004; LIMA, 2002). Kader (2002) relata que durante o armazenamento, os processos vitais dos frutos devem ser minimizados através da utilização de técnicas adequadas que permitam redução da taxa do seu metabolismo, sem comprometimento da fisiologia normal do órgão.

A manutenção da qualidade de frutos depende de uma série de fatores, como estágio de maturação na colheita e condições de armazenagem. A temperatura de armazenagem apresenta grande influência no metabolismo respiratório do fruto (DURIGAN et al., 2004) e na atividade microbiana (CHITARRA e CHITARRA, 2005), determinando diretamente a sua vida útil pós-colheita. Segundo Souza et al. (2004), o uso da refrigeração é necessária como medida de controle da respiração e da transpiração do fruto durante o armazenamento pós-colheita, reduzindo as taxas respiratórias e retardando o amadurecimento.

O uso da atmosfera modificada na etapa de armazenagem pode ser utilizada como método auxiliar à refrigeração na preservação do fruto do maracujá. Diversas pesquisas já foram realizadas com atmosfera modificada, com a finalidade de conservar as características de qualidade e aumentar a vida útil das frutas. (JERÔNIMO et al., 2007; LIMA et al., 2005; GUEVARA et al., 2003). Nesta técnica, a atmosfera no interior da embalagem é alterada pelo uso de filmes plásticos, desacelerando as reações oxidativas (CHITARRA e CHITARRA, 2005). A atmosfera modificada pode ser resumida como a presença de uma barreira artificial à difusão de gases em torno do produto, que resulta em redução do nível de O<sub>2</sub> e aumento do nível de CO<sub>2</sub>, além de alteração na concentração de etileno, vapor d'água e alterações em outros compostos voláteis (LANA e FINGER, 2000).

Awad (1993) relata que o uso de filme plástico à base de PVC (policloreto de vinila) é prático e eficiente, e tem sido muito utilizado, principalmente quando associado ao armazenamento refrigerado. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), frutos envoltos em filmes de PVC apresentam aumento significativo de vida útil no período de armazenamento, decréscimo no desenvolvimento de patógenos e mantêm seus atributos de qualidades.

O escurecimento enzimático está relacionado à ação das enzimas polifenoloxidase (PFO) e peroxidase (POX), que utilizam compostos fenólicos como substratos e provocam alterações indesejáveis na cor, sabor e aroma (VALDERRAMA; MARANGONI; CLEMENTE, 2001). O escurecimento ocorre após danos causados aos tecidos durante os processos de colheita, transporte ou devido a outros estresses fisiológicos causados durante o armazenamento, como desenvolvimento de microrganismos patogênicos que, de maneira geral, levam a desestruturação celular e elevação dos níveis de compostos fenólicos, que são oxidados por enzimas fenoloxidasas, levando a formação de pigmentos escuros (MDLULI, 2005).

Neste contexto, este trabalho objetivou avaliar os efeitos da temperatura de armazenagem e da atmosfera modificada na atividade antioxidante, nos teores de fenólicos totais,  $\beta$ -caroteno e ácido ascórbico, na qualidade física e microbiológica e na atividade de polifenoloxidase e peroxidase do maracujá-amarelo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O Maracujá-Amarelo

Maracujá é um nome de origem indígena tupi (maraú-ýa), que significa o fruto de marahú, que é, por sua vez, derivado de (ma-rã-ú), que significa a coisa de sorver ou que se toma de sorvo (MEDINA, 1980). Segundo o mesmo autor a primeira referência do maracujá que se tem notícia no Brasil foi no “Tratado Descritivo do Brasil em 1587”.

Por ser inspiração de muitos poetas e escritores, o gênero *Passiflora* tornou-se celebre por suas delicadas e exóticas flores denominadas “Flor da Paixão”. *Passiflora* do latim = paixão e flos = flor (MELETTI, 2000).

O maracujá pertence à família *Passifloraceae*, constituída por cerca de 200 espécies nativas do Brasil (FERREIRA, 2005). Nos cultivos comerciais brasileiros se destacam duas espécies: o maracujá-doce (*Passiflora alata*) e o maracujá-amarelo azedo (*Passiflora edulis*), este último responsável por 95% da área plantada no país (EMBRAPA, 2006).

A produção do maracujá está em expansão nos últimos anos. De acordo com o Agriannual (2009), a produção do maracujá no Brasil em 2005, foi de 479.813 ton. em uma área de 35.820 ha, destacando como maior produtor o Estado da Bahia, (139.910 ton.), seguido por Espírito Santo (51.070 ton.), Pará (45.297 ton.), Minas Gerais (44.025 ton.) e Sergipe (41.526 ton.).

Equador, Colômbia e Peru são os maiores países exportadores que dominam o mercado internacional de suco concentrado e de polpa de maracujá. E os principais países produtores de maracujá segundo o IBGE (2010), são: Brasil, Equador e Colômbia. No Brasil, o consumo em sua maioria é interno, sendo que existe uma crescente exportação para União Europeia, numa taxa de 6% ao ano, onde a Holanda, França, Reino Unido e Alemanha são os maiores importadores do maracujá-amarelo na forma *in natura*. Segundo Vasconcelos, et al. (2005), a produção do maracujá, embora presente em todas as regiões brasileiras, encontra-se limitada em certas épocas do ano, pois a frutificação pode ser afetada por mudanças na temperatura, fotoperíodo, radiação solar e precipitação. Cardoso et al. (1999) afirmaram que a produção do maracujá possui sazonalidade, e se concentra no primeiro semestre do ano, principalmente no mês de janeiro, e os meses de menor oferta são de agosto a dezembro, o mês de outubro é ponto mínimo e nesses meses acontecem os picos de preços.

A produção do maracujá amarelo no Paraná situa-se no litoral (16%), norte (50%), noroeste (12%) e no sudeste (15%), com destaque para os municípios de Morretes com

(77 ha) e Cerro Azul (50 ha). A produção é comercializada na forma in natura, e em 2011 foi comercializado na CEASA de Curitiba 1.455 ton., Maringá 587 ton., Londrina 478 ton., Foz de Iguaçu 111 ton. e Cascavel 52,83 ton. Os produtores estão organizados em associações, mas necessitam de intermediários para vender a produção e há carência de indústrias para absorver os frutos menores. Muitos produtores extraem a polpa dos frutos e congelam para comercializar em supermercados, lanchonetes e sorveterias (STENZEL, 1997).

## 2.2 Botânica

Foi Monardis quem, em 1569, descreveu a primeira espécie do gênero *Passiflora*, a saber, *P. incarnata* L., mas sob o nome de Granadilla (CENTEC, 2004).

O fruto do maracujá é carnoso, tipo baga, com epicarpo (casca) às vezes lignificado, mesocarpo com espessura que varia de 0,5 a 4,0 cm, endocarpo (polpa) apresenta sementes com arilo carnoso. O tamanho e a forma dos frutos variam conforme a espécie (SILVA et al., 1994).

Conforme Manica (1981), a espessura do epicarpo (casca), do maracujá é de grande importância, podendo variar de 0,63 a 0,71 cm, podendo apresentar valores maiores, devido a fatores climáticos, que geram alterações fisiológicas.

Por ser uma planta de fecundação cruzadas, esta apresenta elevada taxa de autoincompatibilidade (VASCONCELOS et al., 2001). De acordo com Oliveira (1980), isso resulta na perda da identidade genética e com isso estende a variabilidade dos pomares, resultando em uma grande variabilidade com relação ao tamanho dos frutos e outras características.

Carvalho (1974) descreveu que os frutos de maracujá-amarelo têm a forma arredondada ou ovalada, com peso variando de 31,6 a 176,2 g, com diâmetro variando de 4 a 9 cm e seu comprimento em torno de 4,62 a 8,29 cm. Frutos maiores (> 200g) e ovalado apresentam um rendimento de suco de aproximadamente 40% quando colhidos com mais de 30% de área de casca amarelada (VIANNA-SILVA et al., 2008).

## 2.3 Características Físico-Químicas e Nutricionais

O principal produto extraído do maracujá é o suco (LIMA, 1999), que se caracteriza pela complexidade de aromas voláteis e sabor exótico (MACHADO et al., 2003). O suco de maracujá é definido pela legislação brasileira, Instrução Normativa nº12/03, como bebida não

fermentada e não diluída, obtida da parte comestível do maracujá (*Passiflora* ssp) por meio de um processo tecnológico adequado.

O maracujá é um fruto rico em minerais e vitaminas, especialmente pró-vit. A e vit. C, muito apreciado para o consumo natural devido as suas características organolépticas (SANDI et al., 2003). Frutos de maracujá imaturo, em relatos de Veras et al. (2000), que apresentam a coloração amarelo-verde, tem baixos teores de suco, açúcar, ácido ascórbico e caroteno, já frutos maduros totalmente amarelos apresentam melhor aroma, no entanto no decorrer da maturação é ácido ascórbico aumenta de 15,3 mg 100 g<sup>-1</sup>, em frutos verdes-maduros, para 33,5 mg 100 g<sup>-1</sup> em frutos totalmente maduros.

Condições climáticas, estado nutricional, idade das plantas, polinização e fertilização do solo, esses são alguns dos fatores que podem influenciar as características físico-químicas do maracujá (COSTA et al., 2001). A irrigação também é um fator importante no quesito produção e qualidade dos frutos (CARVALHO et al., 1999).

O suco do maracujá-amarelo, segundo Tavares et al. (2003), possui como características alta acidez e teor de umidade elevado. De acordo com Durigan et al. (2004), os açúcares são os principais componentes dos sólidos solúveis totais do suco de maracujá. O suco do maracujá-amarelo é constituído por açúcares (38,1% dos açúcares são constituídos por glicose, 32,4% por sacarose e 29,4% por frutose), fósforo, ácido ascórbico, cálcio e ferro. Apresenta um teor baixo de taninos assim como de amido e de pectina (HOLANDA et al., 1988). Apresenta vitamina “C” e pró-vitamina “A” (β-caroteno) (FRANCO, 1993).

De acordo com Córdova et al. (2005), a casca do maracujá-amarelo é rica em fibra do tipo solúvel, contendo 57,3% (em base seca) representada por pectina, que é benéfica para a saúde, auxiliando na prevenção de doenças.

Brasil (2000) relata que o suco do maracujá-amarelo deve obedecer a padrões de identidade e qualidade, e atingir valores, ou seja, mínimo de 11° de teor de SST (Brix°) e Acidez Total Titulável (ATT) em ácido cítrico no mínimo 2,5g de açúcares totais e máximo de 18,0 g.

#### **2.4 Conservação Pós-Colheita do Maracujá**

De acordo com Filgueiras et al. (1996), o papel do armazenamento de frutos é deter pelo maior tempo possível as modificações decorrentes do processo de amadurecimento. Considerando o potencial de mercado, uma atenção especial deve ser dada na pós-colheita de

maracujá, principalmente com relação aos maiores cuidados exigidos no manuseio dos frutos e de suas características próprias de *flavor*.

A temperatura de armazenamento é fator importante não só do ponto de vista comercial, como também pode controlar a senescência, uma vez que regula as taxas de todos os processos fisiológicos e bioquímicos associados (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

O uso de mecanismos que reduzem as taxas de transpiração, como a elevação da umidade relativa do ar, o uso de embalagens adequadas, a utilização do resfriamento, podem aumentar o período de armazenamento do maracujá (CASTRO, 1994). Torna-se necessário estabelecer critérios para uma definição do ponto de colheita do maracujá, aumentando o período de conservação pós-colheita.

Uma alternativa, segundo Silva et al. (1999), para aumentar o período de armazenamento do maracujá é a utilização de embalagens, dada a modificação da atmosfera que envolve os frutos. No entanto, a utilização de embalagens plásticas, por aumentar a umidade interna, pode favorecer o desenvolvimento de microrganismos.

O maracujá, segundo Durigan et al. (2004), é um fruto perecível que após o seu desligamento com a planta, sofre diversas transformações, como desidratação do pericarpo, acompanhado de murchamento e enrugamento, com isso diminui sensivelmente seu período de conservação e comercialização. De acordo com MOTA et al. (2003), para prolongar o tempo de armazenamento dos frutos é indispensável empregar métodos de conservação que intervenha nos processos fisiológicos, para diminuir as taxas de transpiração e respiração, por meio da redução da temperatura e da elevação da umidade relativa do ar.

O maracujá-amarelo é um fruto considerado de difícil conservação, pois aliado ao murchamento, perda de peso e enrugamento da casca, apresenta grande susceptibilidade a podridões e a fermentação da polpa (DURIGAN, 1998).

#### 2.4.1 Armazenamento refrigerado

Depois da colheita, os frutos continuam os processos fisiológicos por tempo considerável (SALUNKHE et al., 1984). O armazenamento busca minimizar a intensidade do processo vital das frutas e hortaliças, através da utilização de condições adequadas que permitem uma redução no metabolismo normal, sem alterar sua fisiologia, condições nas quais o armazenamento pode ocorrer por maior espaço de tempo, sem perda apreciável de seus atributos de qualidade (MOSCA, 1992).

A temperatura baixa é um importante fator para prolongar a vida útil e manter a qualidade das frutas e hortaliças (WATADA e MINOTT, 1996) e segundo Chitarra e Alves (2001), a refrigeração é o método mais econômico para o armazenamento prolongado de frutas e hortaliças frescas.

O armazenamento de frutas em baixas temperaturas associado ao controle de umidade pode prolongar sua vida útil (BRACKMANN et al., 2004). A temperatura é um fator importante na preservação da qualidade das frutas, não só pela influencia que exerce na atividade respiratória, como também pela sua influencia sobre a velocidade de crescimento microbiano (REIS et al., 2008).

De acordo com Rodriguez-Amaya et al. (1997), o armazenamento a baixas temperaturas é um recurso utilizado para aumentar a vida útil pós-colheita de frutos e hortaliças. O resfriamento retarda a senescência, diminuindo a respiração e desacelera o amadurecimento.

A refrigeração apresenta uma série de vantagens como: manutenção da qualidade do produto, aumento na vida-de-prateleira e, por consequência, pode levar o fruto a ter melhores preços na comercialização (TANABE e CORTEZ, 1998).

Segundo Brecht (1995), a velocidade das reações metabólicas é reduzida de duas a três vezes a cada redução de 10 °C na temperatura. O armazenamento em baixas temperaturas é muito importante na conservação de frutas, visto que nesta condição a velocidade das reações bioquímicas e fisiológicas é diminuída (LIMA, 2000). O controle da temperatura e da umidade relativa no armazenamento refrigerado é fundamental para prolongar a vida-de-prateleira pós-colheita e retardar o amadurecimento (GOMES JÚNIOR, 2000).

#### 2.4.2 Armazenamento com atmosfera modificada

Armazenamento em atmosfera modificada é utilizado quando a composição da atmosfera de armazenamento não é hermeticamente fechada, tal como na utilização de filmes plásticos, onde ocorrem alterações da composição da atmosfera ( $N_2$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $C_2H_4$ , etc.) voluntariamente ou involuntariamente (WILLS, 1998).

No armazenamento em atmosfera modificada, que pode ser resumida como presença de uma barreira artificial, como por exemplos embalagem de filme plástico, permite que a concentração de  $CO_2$  aumente e a de  $O_2$  diminua, decorrente da respiração do fruto. Neste sistema, as concentrações dos gases não são controladas, variando com o tempo, temperatura, permeabilidade do filme e atividade respiratória do produto. O filme plástico deve apresentar

permeabilidade seletiva adequada à entrada de O<sub>2</sub> e saída de CO<sub>2</sub>, de modo que o produto não entre em anaerobiose ou processo de fermentação (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

De acordo com Jerônimo e Kaneshiro (2000), o uso de atmosfera modificada durante o armazenamento pode reduzir as desordens ocasionadas pela respiração e pela transpiração, como perda de massa e mudança na aparência.

A atmosfera modificada, quando utilizada corretamente, torna-se eficiente em retardar o metabolismo e manter a qualidade do produto por períodos prolongados de armazenamento (CHEN et al., 2000). O uso de filmes plástico é uma alternativa para o aumento do período de armazenamento do maracujá, já que este é um fruto considerado de difícil conservação (SILVA et al., 1999).

Ben-yehoshua (1987) ressalta que o recobrimento dos frutos com filmes à base de polietileno ou cloreto de polivinila, aumenta a resistência à passagem de vapor de água, produzindo uma atmosfera interna com alta umidade relativa, exercendo desta forma um efeito protetor sobre os frutos, aliviando os efeitos da perda de água por transpiração na pós-colheita, que é o fator que mais compromete a qualidade do fruto. Ben-yehoshua (1987), afirma que uma das principais vantagens da embalagem com filmes é que eles estão em contato direto com a superfície do fruto, de forma que as temperaturas deste e da embalagem devem ser a mesma. Isto deve eliminar os problemas de condensação e umidade excessiva que podem levar ao aparecimento de fungos e desordens fisiológicas mais acentuadas.

A composição da atmosfera interna ao redor do produto depende das características de permeabilidade do material da embalagem e da velocidade de consumo ou liberação de gases pelo produto. O filme deve permitir a entrada de O<sub>2</sub> para dentro da embalagem, na mesma velocidade em que é consumida pela respiração, e o mesmo deve ocorrer com a saída de CO<sub>2</sub> da embalagem para o exterior, em relação ao que é produzido pelo produto, pois seu acúmulo poderá provocar distúrbios fisiológicos (SARANTÓPOULOS, 1996).

De acordo com Rodriguez Giro (1994), um filme ideal deve ter uma permeabilidade ao CO<sub>2</sub> de 3 a 5 vezes maior que ao O<sub>2</sub>, para que se alcance um equilíbrio. Para a modificação da atmosfera para frutas e hortaliças, geralmente são utilizados filmes sintéticos como o polietileno de baixa densidade, policloreto de vinil, polipropileno (KADER, 1992).

## **2.5 Propriedades Antioxidantes**

Uma definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste



substrato de maneira eficaz” (SIES e STHAL, 1995). Os antioxidantes são compostos que atuam inibindo e/ou diminuindo os efeitos desencadeados pelos radicais livres e compostos oxidantes. São importantes no combate aos processos oxidativos, com menores danos ao DNA e as macromoléculas, diminuindo assim os danos cumulativos que podem desencadear algumas doenças. (SANTOS et al., 2008).

Estudos têm sido direcionados para a atividade antioxidante total presente em frutas e hortaliças, devido aos diversos constituintes presentes e que possuem propriedades de reduzir o nível do estresse oxidativo (HASSIMOTO et al., 2005).

Os antioxidantes encontrados naturalmente em frutas para uso como fitoterápicos tem despertado um grande interesse na sociedade, para que estes venham substituir os antioxidantes sintéticos, os quais têm uso restrito devido a seus efeitos colaterais (ITO et al., 1983). Agem como nutracêuticos e proporcionam benefícios adicionais a saúde dos consumidores (ARUOMA, 1998; LAI; CHOU; CHAO, 2001).

O ácido ascórbico é muito usado como antioxidante natural em uma variedade de produtos (LARSON, 1997). As vitaminas E, C e o  $\beta$ -caroteno são considerados excelentes antioxidantes, capazes de sequestrar os radicais livres com grande eficiência (MACHLIN, 1992; ROE, 1992).

### 2.5.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são importantes constituintes de muitas frutas e hortaliças sendo que a quantificação dessas substâncias revela informações a respeito da atividade antioxidante, qualidade do alimento e dos potenciais benéficos à saúde (TALCOTT et al., 2003).

Os fenólicos são compostos bem largamente distribuídos no reino vegetal, fazendo parte da dieta de forma significativa, influenciando fortemente a qualidade dos frutos, pois contribuem sensorial e nutricionalmente com estes (SCALZO et al., 2005).

Em estudos realizados por Vison et al. (2001), 86% dos compostos fenólicos consumidos diariamente pela população americana provém de frutas. Segundo Reynerston et al. (2008), os polifenóis de frutas são importantes constituintes antioxidantes da dieta. As frutas, principais fontes dietéticas de polifenóis, apresentam variações quantitativas e qualitativas na composição desses constituintes, em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas). Por sua vez,

a eficácia da ação antioxidante depende da concentração destes fotoquímicos nos alimentos (MELO et al., 2008).

Os compostos fenólicos são caracterizados por uma estrutura aromática, com uma ou mais hidroxilas como grupos funcionais. Estes grupos podem ser substituídos por ésteres, ésteres metálicos e glicosídeos (MORAES e SOUZA, 2007). São facilmente oxidáveis, tanto por meio de enzimas vegetais específicas quanto por influência de metais, luz, calor ou em meio alcalino, ocasionando o escurecimento de soluções ou compostos isolados (SIMÕES, 2001). Os compostos fenólicos podem ser produzidos nas plantas por duas rotas, a do ácido chiquímico, que participa na biossíntese da maioria dos fenóis vegetais e a do ácido malônico, que é menos significativa em plantas, conforme a Figura 1.

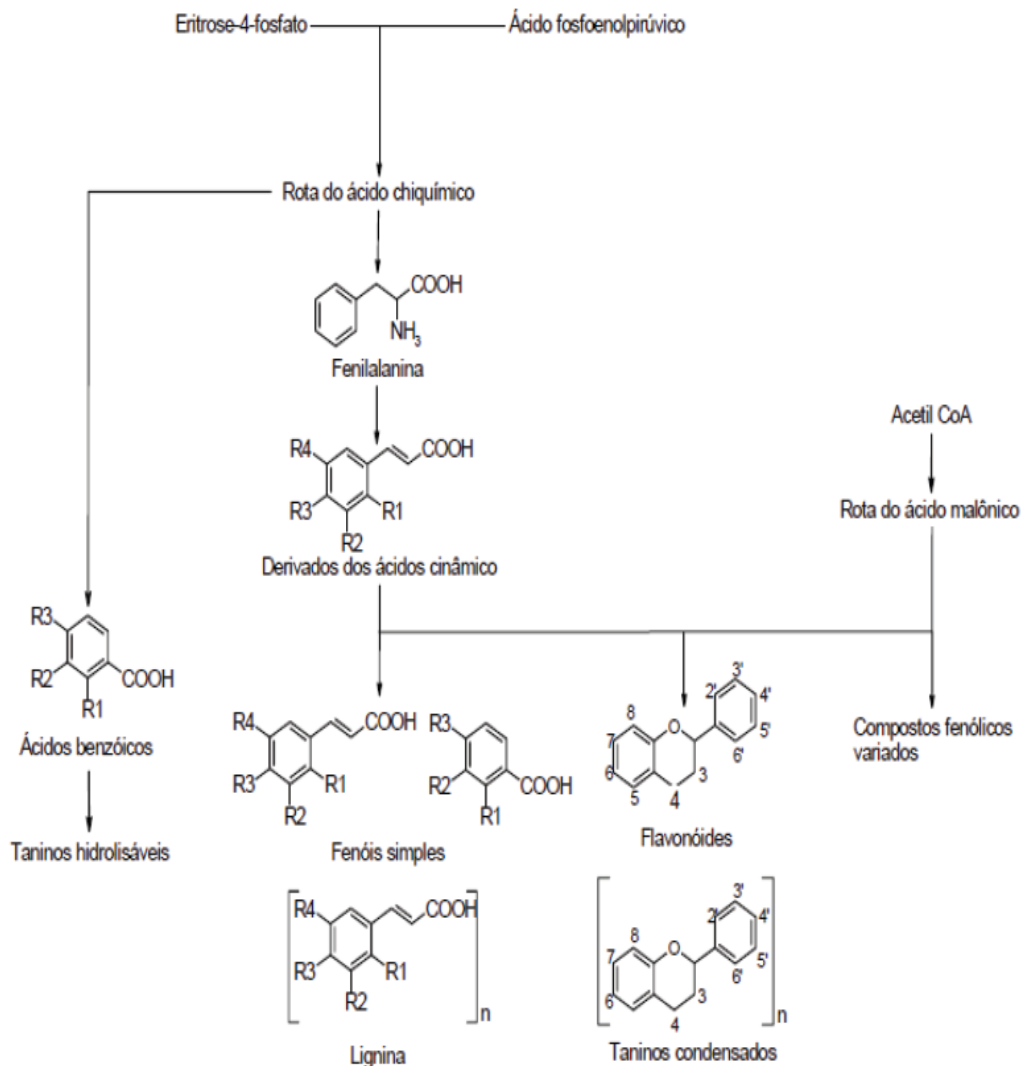


Figura 1 - Rotas de produção dos compostos fenólicos: rota do ácido chiquímico e do ácido malônico.

Fonte: POMPEU, 2007.

A rota do ácido chiquímico converte precursores de carboidratos derivados da glicólise e da rota da pentose fosfato em aminoácidos aromáticos (HERRMANN; WEAVER, 1999). Um dos intermediários dessa rota é o ácido chiquímico; e uma importante enzima é a fenilalanina amônio liase (PAL), que produz o ácido cinâmico. A classe mais abundante de compostos fenólicos secundários em plantas é derivada da fenilalanina, por meio da eliminação de uma molécula de amônia para formar o ácido cinâmico (Figura 2).

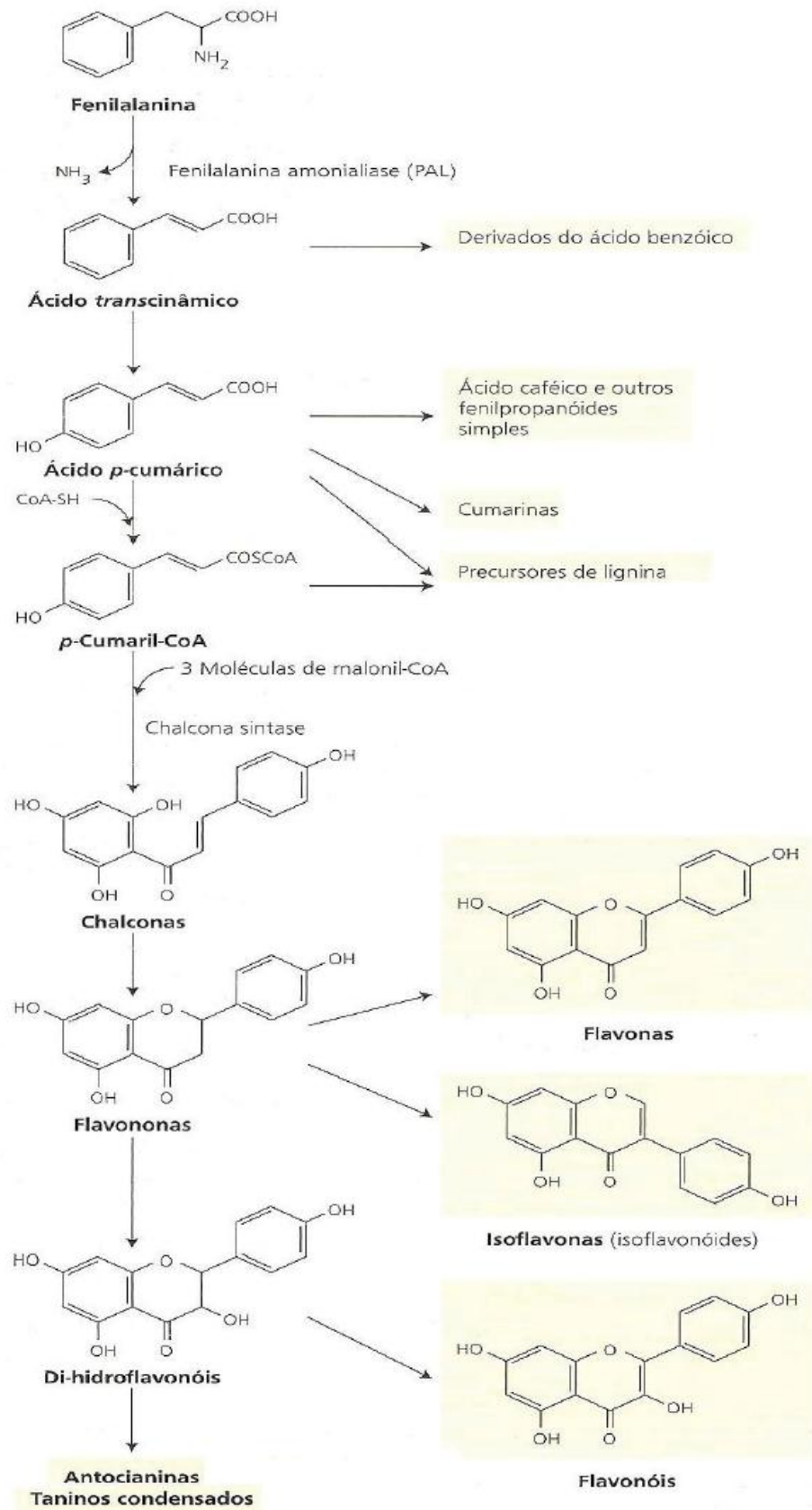


Figura 2 - Compostos fenólicos a partir da fenilalanina  
 Fonte: TAIZ e ZEIGER, 2006.

Os compostos fenólicos são classificados de acordo com seu esqueleto principal, conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o esqueleto básico

<b>Esqueleto básico</b>	<b>Classe de compostos fenólicos</b>
C6	Fenóis simples, benzoquinonas
C6-C1	Ácidos fenólicos
C6-C2	Acetofenonas e ácidos fenilacéticos
C6-C3	Fenilpropanóides: ácidos cinâmicos e compostos análogos, fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas e cromonas
C6-C4	Naftoquinonas
C6-C1-C6	Xantonas, benzofenonas
C6-C2-C6	Estilbenos, antraquinonas
C6-C3-C6	Flavonóides, isoflavonóides e chalconas
(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanas
(C6-C3-C6) <sub>2</sub>	Diflavonóides
(C6) <sub>n</sub>	Melaninas vegetais
(C6-C3) <sub>n</sub>	Ligninas
(C6-C1) <sub>n</sub>	Taninos hidrolisáveis
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Taninos condensados

Fonte: OLDONI, 2007.

Os compostos fenólicos ainda podem ser classificados como pouco distribuídos na natureza, polímeros e largamente distribuídos na natureza (RIBÉREAU-GAYON, 1968).

Os compostos classificados como pouco distribuídos se apresentam em número reduzido, embora estes sejam encontrados com certa frequência na natureza. Dentre eles estão os fenóis simples, o pirocatecol, a hidriquinona, o resorcinol e os aldeídos derivados dos ácidos benzoicos, que são constituintes dos óleos essenciais.

Na família dos compostos largamente distribuídos na natureza se encontra os flavonóides, ácidos fenólicos (benzóico, cinâmico e seus derivados) e as cumarinas. Os flavonóides constituem uma classe muito extensa de compostos naturais distribuídos no reino vegetal. São substâncias aromáticas que contém 15 átomos de carbono no seu esqueleto básico, possuindo estrutura básica C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, onde os dois anéis C<sub>6</sub> são necessariamente aromáticos (anéis A e B), conectados, por uma ponte de três carbonos, que geralmente contém

um átomo de oxigênio (anel C) (RICE-EVANS, 2004, MANACH et al., 2004). São os compostos mais diversificados no reino vegetal. A estrutura básica de um flavonoide pode ser observada na figura 3.

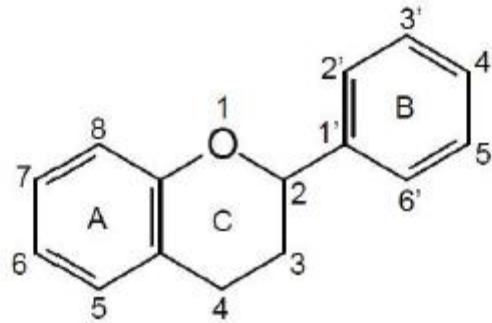


Figura 3 - Estrutura química geral de um flavonoide: dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C).

Fonte: RICE-EVANS, 2004.

### 2.5.2 $\beta$ -Caroteno

Os carotenoides são os pigmentos responsáveis pela maior parte das cores amarelo e laranja das frutas, devido à presença em sua molécula de um cromóforo constituído exclusivamente ou principalmente de uma cadeia de ligações duplas conjugadas. Eles estão presentes em todos os tecidos fotossintéticos, juntamente com a clorofila, bem como tecidos vegetais não fotossintéticos como componentes de cromoplastos, que podem ser considerados como degenerados cloroplastos. (RODRIGUES-AMAYA, 1999; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, VICARIO e HEREDIA, 2004; RODRIGUES-AMAYA, KIMURA, AMAYA-FARFAN, 2008).

Alguns são precursores da vitamina A e dentre os mais encontrados na natureza estão:  $\alpha$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno, criptoxantina e  $\beta$ -caroteno, sendo este último, e seus isômeros os de maiores méritos, tendo em vista a sua atividade de vitamina A em relação aos demais (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Os carotenoides têm importância nutricional para o homem como precursores de vitamina A, atuando na manutenção da integridade dos tecidos epiteliais, no processo visual, no crescimento, reprodução, etc. (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Carotenoides como o  $\beta$ -caroteno, licopeno, zeaxantina e luteína exercem funções antioxidantes em fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam as membranas lipoproteicas (SHAMI e MOREIRA, 2004; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO e HEREDIA et al., 2004; UENOJO; JUNIOR e PASTORE, 2007).

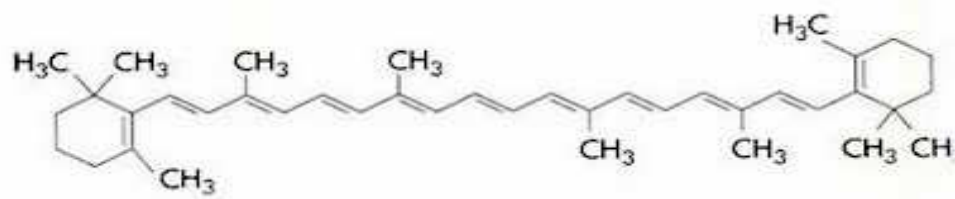


Figura 4 - Estrutura da molécula de  $\beta$ -caroteno

Fonte: NASCIMENTO, 2006.

### 2.5.3 Ácido ascórbico

Ácido ascórbico (AA) é um poderoso antioxidante pela facilidade de oxidação devido à presença do grupo fortemente redutor em sua estrutura, denominado de redutona, a qual se refere também as hidroxilas do grupo C=C, o AA faz parte de um grupo de substâncias químicas complexas necessárias para o funcionamento adequado do organismo, é uma vitamina hidrossolúvel, o que significa que o organismo usa o que necessita e elimina o excesso (BOBBIO e BOBBIO, 1992).

Conhecido como vitamina C, é uma das substâncias com maior significado para a nutrição humana e é encontrado nos frutos frescos, principalmente nos cítricos, maracujá, tomate, batata e em varias outras frutas e verduras (LEE; KADER, 2000). O ácido ascórbico desempenha várias funções biológicas relacionadas ao sistema imune, formação de colágeno, absorção de ferro, inibição de nitrosaminas e atividade antioxidante (VANNUCHI; JORDÃO JÚNIOR, 1998).

O ácido ascórbico é um composto com seis carbonos, estruturalmente relacionado com a glucose e outras hexoses, sendo reversivelmente oxidado no organismo em ácido deidroascórbico (GIANNAKOURU e TAOUKIS 2003). Encontra-se em equilíbrio entre a forma reduzida e oxidada, ácido L-ascórbico e ácido L-dehidroascórbico, respectivamente (Figura 5). A carência dessa vitamina pode ser originada por uma dieta mal equilibrada.

Segundo Kader e Seung (2000), a vitamina C é mais importante na nutrição humana e está presente em frutas e hortaliças. Cerca de 90% das necessidades de vitamina C (ácido ascórbico) do homem são provenientes de frutos e hortaliças.

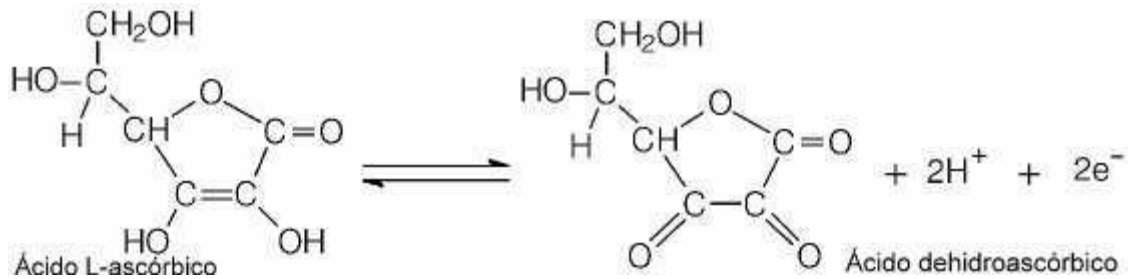


Figura 5 - Estrutura da molécula do ácido L ascórbico e do ácido dehidroascórbico.

Fonte: QUINÁIA e FERREIRA, 2007.

## 2.6 Características Físico-Químicas

### 2.6.1 Perda de massa

Thompson (1998) afirmou que a perda de massa dos frutos, através de processos metabólicos e físicos, pode ser incrementada pelo manejo inadequado ou exposição a organismos que causam enfermidades. A perda de massa pode ocasionar nos frutos perdas tanto em termos quantitativos como qualitativos, que durante o armazenamento é atribuída principalmente à redução de umidade no produto (KADER, 1992).

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), há redução no teor de água durante o armazenamento dos frutos, devido à diferença de pressão de vapor de água entre o fruto e o ambiente. A perda de massa máxima, para a maioria dos produtos hortícolas frescas, sem o aparecimento de murcha ou enrugamento da superfície, oscila entre 5 e 10%, sendo que a perda máxima aceitável varia em função da espécie e do nível de exigência dos consumidores (FINGER e VIEIRA, 1997).

### 2.6.2 Acidez titulável

Segundo Bleironth (1981), com o amadurecimento, a acidez diminui até atingir um conteúdo tal, que juntamente com açúcar, dá à fruta o seu sabor característico, que varia com a espécie. O sabor e o aroma dos frutos dependem de complexas interações entre açúcares e ácidos orgânicos além de participação de fenóis e outros componentes voláteis (SEYMOUR et al., 1993).

A concentração de ácidos diminui durante o amadurecimento da maioria das frutas, por ser usado como substrato da respiração ou como estrutura de outras substâncias sintetizadas (SALAYA, 2001).



De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), após a colheita e durante o armazenamento, a concentração dos ácidos orgânicos usualmente declina em decorrência de sua utilização como substrato na respiração ou na sua transformação em açúcares, porém em alguns casos, há um pequeno aumento nos valores com o avanço da maturação.

As transformações têm um fator importante nas características de sabor (acidez) e do aroma, uma vez que alguns compostos são voláteis. A acidez pode ser utilizada, em conjunto com o dulçor, como ponto de referência do grau de maturação (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

### 2.6.3 Cor da casca

A cor da casca, que é dada por pigmentos, é um fator importante pela atração que produz no consumidor através do sentido da visão e que influencia um pouco no sabor (SALAYA, 2001).

Segundo Mazza e Brouillard (1987), a cor é um importante atributo do alimento, já que a seleção ou julgamento da qualidade seriam extremamente difíceis se a cor fosse removida. A coloração pode promover uma melhor forma indicadora da qualidade e pode estar mais diretamente relacionada com a maturidade do produto. A coloração pode ser analisada, visualmente, com o auxílio de escalas subjetivas padrões ou escalas descritivas, estabelecidas em função do grau de maturação da cada produto (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Segundo Kays (1991), a mudança de cor, para maioria dos frutos, tem sido associada com amadurecimento e, juntamente com firmeza, tem constituído os principais atributos para determinação do estágio de maturação do fruto.

### 2.6.4 Sólidos solúveis totais

Expressos em °Brix, o teor de sólidos solúveis totais tem sido utilizado como índice de maturidade para alguns frutos (MOURA, 1998). O teor de sólidos solúveis é utilizado como medida indireta do conteúdo de açúcares, pois seu valor aumenta à medida que estes vão se acumulando no fruto. Sua determinação não representa o teor exato de açúcares, pois também outras substâncias se encontram dissolvidas no conteúdo celular (vitaminas, fenólicos, pectinas, ácidos orgânicos), no entanto os açúcares são os mais representativos (CHITARRA e ALVES, 2001).

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), os sólidos solúveis totais indicam a quantidade, em gramas, dos sólidos que se encontram dissolvidos no suco ou polpa e têm tendência de aumento com a maturação.

## 2.7 Atividade Enzimática

As enzimas empregadas em tecnologia de alimentos são limitadas, em relação ao número de espécies, em comparação a milhares de enzimas atuantes em outros setores. A maior parte das enzimas utilizadas pela tecnologia de alimentos pertence às classes das hidrolases, proteases, lipases e esterases (EVANGELISTA, 1992). As reações enzimáticas são muito importantes em alimentos, delas depende não só a formação de compostos altamente desejáveis como podem ter consequências indesejáveis. As reações enzimáticas ocorrem não só no alimento natural, mas também durante o seu processamento e armazenamento (BOBBIO e BOBBIO, 1989).

Muitas enzimas são responsáveis por alterações na aparência, no sabor e aroma dos frutos naturais e processados, além disso, o uso delas é bastante amplo. As enzimas são utilizadas na química analítica, na tecnologia de alimentos, agricultura, medicina e estudos ambientais (FATIBELLO FILHO e VIEIRA, 2002).

O escurecimento é iniciado pela oxidação enzimática de compostos fenólicos por polifenoloxidasas. A ação dessas enzimas em várias frutas e vegetais *in natura*, processados e congelados, acarreta perdas econômicas consideráveis, diminuição da qualidade nutritiva, alterações do sabor desses alimentos, além de resultar, na maioria dos casos, em produtos com aparência ruim, os quais são rejeitados pelos consumidores (ARAÚJO, 2004; MAZZAFERA et al., 2002; LIMA et al., 2001).

A grande importância dada a estas enzimas está principalmente relacionada ao processamento de alimentos (ZAWISTOWSKI; BILIADERIS; ESKIN, 1991), pois a sua presença tem um grande impacto na indústria de alimentos por ser a principal enzima envolvida no indesejável escurecimento de frutas e vegetais durante o processamento e armazenamento (NÚÑEZ-DELICADO et al., 2003).

O processo do escurecimento enzimático é desencadeado quando a integridade da célula é rompida. Nessa ocasião, os substratos fenólicos, de localização vacuolar, entram em contato com as enzimas catalisadoras das reações de oxidações de polifenóis. O escurecimento enzimático ocorre quando os substratos fenólicos, as enzimas, o íon metálico e

o oxigênio encontram-se em condições ideais de pH, temperatura e atividade de água (ARTES et al., 1998; VITTI, 2007).

Uma forma de verificar a presença ou não da enzima polifenoloxidase no epicarpo (casca) e no endocarpo (polpa), do maracujá é através técnica da eletroforese.

A eletroforese é uma técnica baseada na separação de partículas, que ocorre quando as mesmas são dissolvidas ou suspensas em um eletrólito, através do qual uma corrente elétrica é aplicada. Esta técnica consiste na migração de moléculas ionizadas, em solução, de acordo com suas cargas elétricas e pesos moleculares em campo elétrico. Moléculas com carga negativa migram para o polo positivo (ânodo) e moléculas com carga positiva migram para o polo negativo (cátodo) (CHELIAK e PITEL, 1984).

## **2.8 Patologia Pós-Colheita**

No Brasil as perdas pós-colheita de frutas podem chegar a 40% dependendo das características da fruta, colheita, transporte e da suscetibilidade a infecção por patógenos (CHITARRA, 2005). Há um grande número de doenças que atacam diversas espécies de frutas na pós-colheita, causadas por fungos, bactérias e vírus. O ataque depende da época, se agravando em períodos chuvosos podendo alcançar perdas de até 40% (JUNQUEIRA et al, 2003; LUTCHEMAH, 1992).

As doenças que ocorrem na pós-colheita do maracujá, são em grande parte originadas no campo, e envolvem condições climáticas desfavoráveis das regiões produtoras. Cultivares suscetíveis, tratos culturais e fitossanitários aplicados incorretamente também influencia na degradação dos frutos por patógenos na pós-colheita (BENATO, 1999).

Uma das doenças mais importantes do maracujá-amarelo, na pós-colheita, é a antracnose (SILVA e DURIGAN, 2000), caracterizada pela presença de manchas ou podridões na superfície dos frutos (PERUCH, 1998), resultantes de infecções quiescentes ocorridas no campo (BENATO, 1999). Os frutos são descartados quando apresentam muitos desses sintomas durante a comercialização (TEIXEIRA, 1995).

Após a colheita, a suscetibilidade do maracujá às podridões é elevada, com ocorrência significativa de perda de massa fresca e fermentação da polpa. Sob condições normais de temperatura ambiente, pode ser conservado por sete a dez dias (ARJONA et al., 1992). Sabe-se que para uma boa aceitação pelos consumidores, os frutos devem estar túrgidos, com a casca amarela, lisa ou pouco enrugada, e com ausência de manchas e de defeitos que possam

afetar a qualidade da polpa, tais como rachaduras, presença de fungos e sinais de ataque por insetos (CETEC, 1985).

As injúrias mecânicas, além de alterar a aparência dos frutos, estimulam a produção de etileno, aceleram o amadurecimento e, conseqüentemente, reduzem seu tempo de comercialização (KLUGE et al., 2002). As doenças pós-colheita podem ser ocasionadas por patógenos que infectamos frutos após a colheita, geralmente através de ferimentos (BARKAI-GOLAN, 2001).

## 2.9 Referências

AGRIANUAL 2008. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria, 2009.

AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S.M.A.; PADOVANI, R.M. DRI. Síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.14, n.1, p.71-78, 2008.

ARAÚJO, C.M.; GAVA, A.J.; OBBS, P.G.; NEVES, J.F.; MAIA, P.C.B. .Características industriais do maracujá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) e maturação do fruto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, n.9, p.65-69, 1974.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 3 ed. Viçosa: UFV, 478p. 2004.

ARÊDES, A.F.; PEREIRA, M.W.G.; GOMES, M F.M.; RUFINO, J.L.S. Análise econômica da irrigação na cultura do maracujá. **Revista de Economia da Universidade Estadual de Goiás**, Anápolis, v.5, n.1, p.66-86, 2009.

ARJONA, H.E.; MATTA, F.B.; GARNER, J.O. Temperature and storage time affect quality of yellow passion fruit. **Hort Science**, Alexandria, v.27, n.7, p.809-810, 1992.

ARTES, F.; CASTANER, M.; GIL, M.I. El pardeamiento enzimático em frutas y hortalizas minimamente processadas. **Food Science Research Internacional**, v.6, p.377-389, 1998.

ARUOMA, O.I. Characterization of food antioxidants, illustrated using commercial garlic and ginger preparations. **Food Chemistry**, v.60, n.2, p.149-156, 1997.

BAHORUN, T.; SOOBRAATTEE, M.A.; NEERGHEEN, V.S; LUXIMON-AMMA, A.; ARUOMA, O. I. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, Amsterdam, v.579, p.200-213, 2005.

BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables: Development and control**. Amsterdam: Elsevier, 418p, 2001.

BEM-YEHOSHUA, S. Transpiration, Water Stress, and Gás Exchange. In. WEICHMANN, J. **Postharvest Physiology of Vegetables**. New York: Marcel Dekker, p.113-70. 1987.

- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela. 223p. 1989.
- BOBBIO, P.A. BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 151p. 1992.
- BLEIRONTH, E.W. Matéria-prima. In: MEDINA, J.C. **Frutos Tropicais, Manga**. São Paulo: ITAL, p.243-292, 1981.
- BRACKMANN, A.; GIEHL, R.F.H.; SESTARI, I.; STEFFENS, C.A. Armazenamento de nêspersas (*Eriobotryia japonica*, Lindl.) cv. Mizuho em atmosfera modificada. **Revista Científica Rural**, v.9, p.18-24, 2004.
- BRASIL. Leis, Decretos, etc. Instrução Normativa nº1, de 7 de janeiro de 2000, do ministério da Agricultura. **Diário Oficial da União**, Brasília, nº6, 10 de janeiro 2000. Seção I, p.54-58. [Aprova os para fixação dos padrões de identidade e qualidade para as polpas e sucos de frutas].
- BRECHT, J. K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **Hort Science**, v.30, n.1, p.18-22, 1995.
- BENATO, E. A. Controle de doenças pós-colheita em frutas tropicais. **Summa Phytopathologica** v.25, p.90-93, 1999.
- CARDOSO, C.E.L.; SOUZA, J.S.; LIMA, A.A.; COELHO, E.F. **O cultivo do maracujá: aspectos econômicos**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, n.35, 109p. 1999.
- CARVALHO, A.J.C. de; MARTINS, D.P.; MONERAT, P.H. Produtividade e qualidade do maracujazeiro amarelo em resposta à adubação potássica sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.21, n.3, p.333-337, 1999.
- CARVALHO, A.M. Melhoramento cultural do maracujazeiro. In: Simpósio da cultura do maracujá, 1, 1974, Campinas. **Anais**. Campinas: CATI, p.8-10, 1974.
- CASIMIR, D.J.; KEFFORD, J.F.; WHITEFIELDS, F.B. Technology and flavor chemistry of passion fruit juices and concentrates. **Advances in Food Research**, London, v.27, n.1, p.243-249, 1981.
- CASTRO, J.V. Matéria-prima. In: ITAL, **Maracujá**. Campinas: ITAL. 267p. 1994.
- CENTEC - Instituto Centro de Ensino Tecnológico. **Produtor de maracujá**. Fortaleza, 2004.
- CETEC. **Manual para fabricação de geléias**. Belo Horizonte: Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais, 42 p, 1985.
- CHELIAK, W.M.; PITEL, J. A. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. **Information report PI-X**, Chalk River, v.42, p.1-13, 1984.

CHEN, X.; HERTOOG, M.L.A.T.M.; BANKS, N.H. The effect of temperature on gas relations in MA packages for capsicums (*Capsicum annuum L*, cv. Tasty): an integrated approach. **Postharvest Biology and Technology**, v.20, p.71-80, 2000.

CHITARRA, A.B.; ALVES, R. E. **Tecnologia de pós-colheita para frutas tropicais**. Fortaleza: FRUTAL - SIDIFRUTA, v.1, 314p, 2001.

CHITARRA, M.I.F. CHITARRA, A.B. **Pós Colheita de Frutos e Hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESALQ/FAEPE, 2005.

CÓRDOVA, V.K.; GAMA, B.T.M.M.T.; WINTER, G.M.C.; NETO, K.G.; FREITAS, S.J.R. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*passiflora edulis flavicarpa degener*) obtida por secagem. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.23, n.2, p.221-230, 2005.

COSTA, J.R.M.; LIMA, C.A. de A.; LIMA, E.D.P. de A.; CAVALCANTE, L.F.; OLIVEIRA, F. K.D. de, Caracterização dos frutos de maracujá amarelo irrigado com água salina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.5, n.1, p.143-146, 2001.

CRUZ, A.P.G. **Avaliação da microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante**; Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Instituto de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

DINCER, B.; COLAK, A.; AYDIN, N.; KADIOGLU, A.; GUNER, S. Characterization of polyphenoloxidase from Medlar fruits(*Mespilus germanica L*, *Rosacea*), **Food Chemistry** v.77, p.1-7, 2002.

DURIGAN, J.F. Colheita e Conservação Pós-colheita. In: RUGGIERO, C. MARACUJÁ DO PLANTIO À COLHEITA. SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5, 1998, Jaboticabal. **Anais**. Jaboticabal: Funep, p.257-278,1998.

DURIGAN, J.F.; SIGRIST, J.M.M.; ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.; VIEIRA, G. **Qualidade e tecnologia pós-colheita do maracujá**. In: LIMA, A.A.; CUNHA, M.A.P. **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas: Embrapa. p.283-303, 2004.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Maracujá demandas para Pesquisa**. Planaltina D.F. 2006.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu. 652 p,1992.

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

FERREIRA, F.R. Recursos Genéticos em Passiflora. In: Faleiro, F. G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M. F.(Org.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, v.1, p.41-51, 2005.

FILGUEIRAS, H.A.C.; CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Armazenamento de ameixas sob refrigeração e atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas – Ba.v.18, n.1, p.115-127,1996.

FINGER, F.L.; VIEIRA, G. **Controle da Perda Pós-colheita de Água em Produtos Minimamente Processados**. Viçosa: UFV, 29p. 1997.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9 ed. São Paulo: Atheneu, 1993.

GIANNAKOURU, M.C.; TAOUKIS, P.S. Kinetic modeling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. **Food Chemistry**, v.83, p.33-41, 2003.

GOMES JÚNIOR, J. **Susceptibilidade a danos pelo frio de melões amarelos “AF 646” e “Rochedo”**. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 2000.

HASSIMOTO, N.M.A.; GENOVESE, M I.; LAJOLO, F.M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.53, p.2928-2935, 2005.

HERRMANN, K.M.;WEAVER, L.M. The shikimate pathway. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.50, n.1, p.473-503, 1999.

HOLANDA, L.F.F. de; SESSA, M.C. de M.; MAIA, G.A.; OLIVEIRA, G.S.F. de; FIGUEIREDO, R. W. de. Características físico-químicas e químicas do suco do maracujá cultivado no município de Ubajara, CE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9. , 1987, Campinas, SP. **Anais**. Campinas: SBF,v.2, p.585-590, 1988.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Dados demográficos e produção agrícola municipal**. Rio de Janeiro, 387p, 2010.

ITO, N.; FUKUSHIMA, S.; HASEGAWA, A.; SHIBATA, M. OGISO, T. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. **Journal of the National Cancer Institute**, v.70, n.2, p.343-347, 1983.

JACQUES, A.C. **Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv.TUPY**; Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul - Brasil Julho 2009.

JERÔNIMO, E.M.; KANESIRO, M.A.B. Efeito da associação de armazenamento sob refrigeração e atmosfera modificada na qualidade de mangas “Palmer”. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.22, n.2 , p.237-243, 2000.

JUNQUEIRA-GUERTZENSTEIN S.M, SRUR AUOS. Uso da casca de maracujá (*Passiflora edulis, f. flavicarpa, Deg.*) cv amarelo na alimentação de ratos (*rattus norvergicus*) normais e diabéticos. **Revista Cadernos do Centro Universitário São Camilo**, v.10, p.213-218, 2002.

JUNQUEIRA, N.T.V.; ANSELMO, R.M.; PINTO, A.C.Q.; RAMOS, V.H.V.; PEREIRA, A.V.; NASCIMENTO, A.C. Severidade da antracnose e perda de matéria fresca de frutos de dez procedências de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata Dryander*) em dois ambientes de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.71-73, 2003.

KADER, A.A. Postharvest biology and technology: an overview. In: KADER, A.A. **Postharvest Technology of Horticultural Crops**. Oakland: University of California, p.15-20, 1992.

KADER, A.K.; SEUNG, K.L. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p.207-220, 2000.

KLUGE, R.A.; NACHTIGAL, J.C.; FACHINELLO, J.C.; BILHALVA, A.B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Campinas: Editora Rural, 214p. 2002.

LAI, L.S.; CHOU, T.; CHAO, W.W. Studies on the antioxidative activities of Hsiantsoo (*Mesona procumbens Hemsl*) leaf gum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.2, p.963-968, 2001.

LARSON, R.A. **Naturally Occurring Antioxidants**. Boca Raton: CRC Press, 1997.

LAYRISSE, M. et al. New property of vitamin A and B-carotene on human iron absorption: effect on phytate and polyphenols as inhibitors of iron absorption. **Archivos Latino-americanos Nutrición**, Guatemala, v.50, p.243-248, 2000.

LIMA, E.D.P. de A.; PASTORE, G.M.; LIMA, C.A. de Al. Extração e atividade da enzima polifenoloxidase em diferentes partes da pinha (*Annona squamosa* L.) nos estádios de maturação verde e maduro. **Agropecuária Técnica**, Areia, v.22, p.33-43, 2001.

LIMA, L.C.O. Processamento mínimo de kiwi e mamão. In: II Encontro nacional sobre o processamento mínimo de frutas e hortaliças, Viçosa. MG. **Palestra**. p.95-109.2000.

LIMA, A. de A. **O cultivo do maracujá**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, Circular Técnica nº 35, 130p., 1999.

LEE, S. K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v.20, n.3, p.207-220, 2000.

LUTCHMEAH, R. S. A new disease of passion fruit in Mauritius: postharvest steamed rot caused *Phomopsis tersa*. **Plant Pathology**, Oxford, v.41, p.772-773, 1992.

MACHADO, S.S.; CARDOSO, R.L.; MATSUURA, F.C.A.U.; FOLEGATTI, M.I.S. Caracterização física e físico-química de frutos de maracujá amarelo provenientes da região de Jaguaquara. **Magistra**, Cruz das Almas, v.15, n.2, p.229-233, 2003.

MACHLIN, L.J. Introduction. **Annals of the New York Academy Sciences**, v. 669, n. 4, p.1-6, 1992.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.79, n.5, p.727-747, 2004.

MANICA, Y. **Maracujá**. São Paulo: Ed. Agr. Ceres, 151p., 1981.



MAZZAFERA, P; GONÇALVES, K.V.; SHIMIZU, M.M. Extração e dosagem da atividade da polifenoloxidase do café. **Scientia Agrícola**, v.59, p.695-700, 2002.

MEDINA, J.C.; GARCIA, J.L.M.; LARA, J.C.C.; TOCCHINI, R.P.; HASHIZUME, T.; MORETTI, V.A.; CANTO, W.L. **Maracujá**: da cultura ao processamento e comercialização. Campinas: ITAL, 207p., 1980.

MELÉNDEZ-MARTINEZ A.J.; VICARIO I.M.; HEREDIA, F.J. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. **Archivos Latino-americanos de Nutricion**. v.54, n.2, p.209-215, 2004.

MELETTI, L.M.M. **Maracujá**: produção e comercialização. Campinas: Instituto Agrônômico, (Boletim Técnico, 181), 62p., 1999.

MELETTI, L.M.M. Maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims.) In: MELETTI, L.M.M. (Ed.) **Propagação de frutíferas tropicais**. Guaíba: Agropecuária Ltda. p.186-204, 2000.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S., LIMA, V.L.A.G.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, p.193-201, 2008.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; ARAÚJO, C.R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara v.19, n.1, p.67-72, 2008.

MOURA, C.F.H. Qualidade de pendúnculos de clones de cajueiro anão-precoce (*Anarcadium occidentale* L. var. nanum) irrigado. 97f. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1988.

MORAES-DE-SOUZA, R.A. Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil. 60p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

MOSCA, J.L. Conservação pós-colheita de frutos do mamoeiro “Improved Sunrise Solo Line 72/12”, com utilização de filmes protetores e cera, associados à refrigeração 1992.91f. **Dissertação de Mestrado**- Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 1992.

MOTA, W.F.; SALOMÃO, L.C.C.; CECON, P.R.; FINGER, F.L. Ceras e Embalagem Plástica na Conservação Pós-Colheita do Maracujá- Amarelo. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.60, n.1, p.51- 57, 2003.

NASCIMENTO, P. Avaliação da retenção de carotenoides de abóbora, mandioca e batata doce. São José do Rio Preto, 150 p, 2006. **Dissertação de Mestrado**, Engenharia e Ciência de Alimentos - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

NÚÑEZ-DELICADO, E.; SOJO, M.M; GARCÍA-CARMONA, F.; SÁNCHEZ-FERRER, A., Partial purification of latent persimmon fruit polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.2058-2063, 2003.

- OLDONI, T.L.C. Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie de *Apis mellifera*. 105p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- OLIVEIRA, J.C. Melhoramento genético do maracujazeiro. In: RUGGIERO, C. **Cultura do maracujazeiro**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, p.115-130, 1980.
- OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal Chromatography**, Amsterdam, v. 881, p.543-555, 2000.
- PERUCH, L.A.M. Controle integrado da antracnose no maracujá amarelo. **Dissertação de Mestrado**. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina. 1998.
- POMPEU, D.R. Absorção de três famílias de compostos fenólicos em resinas sintéticas macroporosa. 74p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.
- QUINÁIA, S.P.; FERREIRA, M. Determinação de Ácido Ascórbico em Fármacos e Sucos de Frutas por Titulação Espectrofotométrica. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 9, n. 1, 2007.
- REIS, K.C. DOS SIQUEIRA, H.H. ALVES, A.P.; SILVA, J.D., LIMA, L.C. O. Efeito de diferentes sanificantes sobre qualidade de morango cv. oso grande. **Ciência Agrotécnica**. Lavras .v.32, n.1, 196-202, 2008.
- REYNERSTON, K.A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M.B.; KENNELLY, E.J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.
- RIBÉREAU-GAYON, P. **Les composés Phénoliques des Végétaux**. Paris: Dunod, 254p. 1968.
- RICE - EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acid. **Free Radical Biology e Medicine**. v.20, n.7, p.933-956, 1996.
- RICE - EVANS, C.; Flavonoids and isoflavones (Phytoestrogens): Absorption, Metabolism and Bioactivity. **Free Radical Biology and Medicine**, v.36, n.7, p.827-828, 2004.
- RODRIGUEZ - AMAYA, D.B., PASTORE, G.M. Ciências de Alimentos. Avanços e Perspectivas na América Latina. In. Simpósio Latino-Americano de Ciência de Alimentos, 1997 **Anais**. Campinas. Fundação Cargil, p.151-155, 1997.
- RODRIGUEZ-AMAYA D.B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. Washington, International Life Sciences Institute, 64p. 1999.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M. **Fontes brasileiras de carotenóides**: Tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos. Brasília, DF: MMA/SBF, 100p. 2004.

RODRIGUEZ GIRO, M. Envasado Bajo Atmosfera Protectora. **Alimentacion Equipas y Tecnologia**, v.13, n.1, p.43-49, 1994.

ROE, D.A. Effects of drugs on vitamins needs. **Annals of the New York Academy Sciences**. v.669, p.156-163, 1992.

SALAYA, G.F.G. **Fruticultura**: madurez de la fruta y manejo poscosecha - fruta de clima temperado y subtropical y uva de vino. Edicione Universidade Católica do Chile, 2001.

SALUNKHE, D.K.; DESAI, B.B. **Postharvest Biotechnology of Fruits**. Boca Raton: CRC, v.2, 167p., 1984.

SANDI, D.; CHAVES, J.B.P.; PARREIRAS, J.F.M.; SOUZA, A.C.G. DA SILVA, M.T.C.; Avaliação da qualidade sensorial de suco de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) submetido a pasteurização e armazenamento. **Boletim CEPPA**. v.2, n.1, p.141-158. 2003.

SANTOS, G.M. dos; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M. de; COSTA, J.M.C. da C.; FIGUEIREDO, R. W. de; PRADO, G.M. do. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latino - americanos de Nutricion**. v.58, n.2, p.187-192, 2008.

SAMPAIO, A.C.; FUMIS, T. DE F.; ALMEIDA, A.M. DE; PINOTTI, R.N.; GARCIA, M.J.D.E. M.; PALLAMIN, M. L. Manejo cultural do maracujazeiro-amarelo em ciclo anual visando á convivência com o vírus do endurecimento dos frutos: um estudo de caso. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.30, p.343-347, 2008.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L. **Embalagens com atmosfera modificada**. Campinas: ITAL - Centro de Tecnologia de Embalagens de Alimentos, 114p. 1996.

SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G.A. **Biochemistry of Fruit Ripening**. London: Chapman e Hall, 454p., 1983.

SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic content in fruit. **Nutrition**, Los Angeles, v.21, n.2, p.207-213, 2005.

SHAMI, N.J.I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SILVA, A. C.; SÃO JOSÉ, A.R. Classificação botânica do maracujazeiro. In: São José, A.R. (Ed) **Maracujá**: Produção e mercado. Vitória da Conquista: BA/UESB, p.178-183, 1994.

SILVA, A.P.; VIEITES, R.L.; CEREDA, E. Conservação de maracujá doce pelo uso de cera e choque a frio. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v.56, n.4, 1999.

SILVA, A.P. e DURIGAN, J.F. Colheita e conservação pós-colheita do maracujá. **Informe Agropecuário**, v.21, p.67-71, 2000.

SIMÕES, C.M.C.; SCH ENKEL, E.P.; GOSMANN,G.; MELLO,J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed., Porto Alegre: UFRGS, 883p., 2001.

SOUSA, J.P.; PRAÇA, E.F.; ALVES, R.E.; NETO, B.; DANTAS, F.F. Influência do armazenamento refrigerado em associação com atmosfera modificada por filmes plásticos na qualidade de mangas ‘Tommy Atkins’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p.665-668, 2002.

STENZEL, N.M.C.; Situação da Cultura do Maracujá no Sul do Brasil. 5º Simpósio Brasileiro sobre a Cultura do Maracujazeiro. Jaboticabal, 1998. **Anais**. Jaboticabal, p.388, 1997.

TALCOTT, S.T.; PERCIVAL, S.S.; PITTET - MOORE, J.; CELORIA, C. Phytochemical, composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.51, p.935-941, 2003.

TANABE, C.S.; CORTEZ, L.A.B. Aumento da competitividade no setor de frutas e hortaliças com a implantação da “cadeia do frio” no Brasil. In. Simpósio Avanços Tecnológicos na Agroindústria Tropical, **Anais**, EMBRAPA-CNPAT, p.229-232,1998.

TAVARES, J.T. de Q.; SILVA, C.L. da; CARVALHO, L.A. de; SILVA, M.A. da; SANTOS, C. M.G.; TEIXEIRA, L. de J.; SANTANA, R. da S. Aplicação pós-colheita de cloreto de cálcio em maracujá amarelo. **Magistra**, Cruz das Almas, v.15, n.1, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Ed.4, Sunderland: Sinauer Associates, 705p., 2006.

TEIXEIRA, C.G. Cultura. In: Instituto de Alimentos. **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. 2ª ed. Campinas: ITAL-IPEA. Série Frutas Tropicais, 9, 1995.

THOMPSON, A.K. **Tecnologia Postcosecha de Frutas y Hortaliças**. Armenia: Editora Kinesis, 268p., 1998.

UENOJO M.; JUNIOR M.R.M.; PASTORE G.M.; Carotenoides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**. v.30, n.3, p.616-622, 2007.

VANNUCCHI, H.A.; JORDÃO JÚNIOR, A.F. Vitaminas hidrossolúveis. In: DUTRA DE OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo: Sarvier, p.191-208, 1998.

VASCONCELLOS, M.A.S.; BRANDÃO FILHO, J.U.T.; VIEITES, R.L. Maracujá-doce. In: BRÜCKNER, C.H.; PICANÇO, M.C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós- colheita, agroindústria e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 472p., 2001.

VASCONCELLOS, M.A.S.; SILVA, A.C.; REIS, F.O. Ecofisiologia do maracujazeiro e implicações na exploração diversificada. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N.T. V.; BRAGA, M.F. (Ed.). **Maracujá, germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.295-313, 2005.

VERAS, M.C.M.; PINTO, A.C.Q.; MENESES, J.B.; Influência da época de produção e dos estádios de maturação nos maracujás doces e ácidos nas condições de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.35, n.5, p.959-966, 2000.

VITTI, M.C.D. Respostas fisiológicas e bioquímicas de diferentes cultivares de batatas ao processamento mínimo. **Tese (Doutorado)**, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.

VIANA, A.P., SILVA, T.V., RESENDE, E.D., PEREIRA, S.M.F., CARLOS, L. A., VITORAZI, L. Determinação da escala de coloração da casca e do rendimento em suco do maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.880-884, 2008.

VISON, J.A.; ZUBIK, L.; BOSE, P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. Easton, v.49, p.5315-5321, 2001.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v.44, n.3, p.701-705, 1996.

WANG, C.Y. **Chilling injury of horticultural crops**. Florida: CRC Press, 300p., 1990.

WATADA, A.E.; MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology Technology**. v.9, p.115-125, 1996.

WILLS, R. **Postharvest: an introduction to the physiology & handling of fruit, vegetables and ornamentals**. Adelaide: Hyde Park Press, 262p., 1998.

ZAWISTOWSKI, J.; BILIADERIS, C.G.; ESKIN, N.A.M. Polyphenol oxidase In: ROBINSON, D. S.; ESKIN, N. A. M. (Ed.). **Oxidative enzymes in foods**. London: Elsevier Science Publishers, p.217-273, 1991.

### 3 EXPERIMENTOS 1 - COMPOSIÇÃO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E QUALIDADE DO MARACUJÁ-AMARELO DURANTE ARMAZENAMENTO

#### 3.1 Introdução

O maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* forma *flavicarpa* Degener) é uma fruta muito cultivada e explorada em todo o território brasileiro, com ótimo retorno econômico e despertando interesse dos fruticultores perante sua rápida produção em relação às demais frutíferas e pela grande aceitação no mercado (SAMPAIO et al., 2008). Os frutos do maracujá-amarelo são ricos em minerais, vitaminas (LIMA, 2002), compostos fenólicos (TALCOTT et al., 2003) e carotenoides (SOUZA et al., 2004). A presença de  $\beta$ -caroteno no maracujá-amarelo é responsável pela cor amarelada típica do suco (UENOJO; MARÓSTICA-JUNIOR; PASTORE, 2007). O acúmulo de vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides em frutos é variável e depende, entre muitos fatores, do estágio de maturação e das condições de armazenamento (VEBERIC; COLARIC; STAMPAR, 2008). Tais compostos são sintetizados por vias metabólicas durante o desenvolvimento e maturação de frutos com diferentes funções bioquímicas e físicas no órgão, participando em mecanismos de defesa, atratividade e como antioxidantes (KADER, 2002; CHITARRA e CHITARRA, 2005).

O consumo de frutas tropicais tem aumentado em nível nacional e internacional devido ao crescente reconhecimento de seu valor nutricional e terapêutico. Neste aspecto, tem sido dado grande destaque a atividade antioxidante de compostos presentes nas frutas, por possuírem potencial de reduzir o nível de estresse oxidativo celular (RUFINO et al., 2010; HASSIMOTTO; GENOVESE; LAJOLO, 2005). Segundo Pietta (2000) os antioxidantes são substâncias que reduzem o dano oxidativo das células, bloqueando os radicais livres e prevenindo a formação de algumas doenças. A capacidade antioxidante tem sido expressa utilizando diferentes metodologias *in vitro*, incluindo, entre outras, a capacidade sequestradora de radicais peroxil (ORAC- *oxygen radical absorbance capacity*), capacidade de redução do metal (FRAP-*ferric reducing antioxidant power*), capacidade sequestradora de radical orgânico ABTS (*2,2'-azino-bis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)*) e capacidade sequestradora do radical oxidante DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), e pelo menos dois desses ensaios (ou mesmo todos), devem ser combinados para prover uma análise confiável da capacidade antioxidante total em uma matriz alimentícia (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008).

A manutenção da qualidade de frutos depende de uma série de fatores, como estágio de maturação na colheita e condições de armazenamento. A temperatura de armazenamento

apresenta grande influência no metabolismo respiratório do fruto (DURIGAN et al., 2004) e na atividade microbiana (CHITARRA e CHITARRA, 2005), determinando diretamente a sua vida útil pós-colheita. Segundo Souza et al. (2004), o uso da refrigeração é necessário como medida de controle da respiração e da transpiração do fruto durante o armazenamento pós-colheita, reduzindo as taxas respiratórias e retardando o amadurecimento. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), o fenômeno de alteração pós-colheita mais conhecido no maracujá é o enrugamento dos frutos, que ocorre quando as perdas de água atingem de 3 a 6%, afetando a sua qualidade. Diversas pesquisas têm sido realizadas sobre o armazenamento de frutos de espécies de *Passiflora*, mas nenhum trabalho abordou ainda a atividade antioxidante como um parâmetro de resposta ao estresse fisiológico pós-colheita do maracujá-amarelo. Desta forma, este trabalho objetivou determinar o efeito da temperatura e do tempo de armazenamento na atividade antioxidante, nos teores de fenólicos totais,  $\beta$ -caroteno e ácido ascórbico do suco e na qualidade física e microbiológica do fruto do maracujá-amarelo.

### **3.2 Material e Métodos**

#### **3.2.1 Obtenção e preparo dos frutos**

Foram avaliados frutos de maracujá-amarelo provenientes de um pomar comercial no município de Corumbataí do Sul, PR, colhidos em abril de 2011. A área de cultivo está localizada a 24°06'03'' de latitude sul e 52°07'12'' de longitude oeste, estando a uma altitude de 601 m. Foram colhidos frutos em estágio fisiológico em início de amadurecimento, ou seja, cor da casca predominantemente verde. Depois de criteriosa seleção, foram escolhidos para o experimento frutos de tamanho e cor uniformes, sadios e sem defeitos ou danos físicos. Os frutos foram higienizados através de lavagem com água corrente e sanitizados com solução de hipoclorito de sódio a 0,1 mL L<sup>-1</sup>, por imersão durante 3 minutos em temperatura ambiente e depois secos com papel toalha.

#### **3.2.2 Armazenamento e amostragem**

Os frutos foram acondicionados em bandejas de poliestireno expandido contendo dois frutos cada e sob atmosfera normal (não embalados com filme plástico), num total de cinco bandejas para cada condição de armazenamento. Depois foram armazenados nas temperaturas de 5 e 24 °C ( $\pm 2$  °C) e avaliados em intervalos de 10 dias, num período de 40 dias. O

delineamento inteiramente casualizado foi utilizado no planejamento experimental, com cinco repetições. A cada período de avaliação, amostragens de grupos destrutivos foram realizadas para a extração do suco e análises bioquímicas. Na extração do suco, um corte transversal foi feito nos frutos com faca de aço inoxidável, sendo a polpa retirada e o suco separado da semente com peneira plástica. As amostras de suco foram acondicionadas em tubos plásticos de 15 mL e armazenadas sob congelamento a -24 °C. Outro grupo não destrutivo foi considerado para análises físicas e microbiológicas.

### 3.2.3 Compostos fenólicos totais

O método utilizado para determinação dos fenóis totais seguiu metodologia de Singleton, Orthofer e Lamuela (1999). Amostras de 2,2 mL de suco do maracujá foram transferidas para tubos de ensaio, onde foram adicionados 8,0 mL de etanol. Os tubos foram submetidos à agitação por 2 minutos e depois centrifugados a 2000 g durante 10 minutos. Depois, os extratos foram filtrados em filtro de papel qualitativo (15 µm). Uma alíquota de 0,5 mL da amostra foi transferida para tubo de ensaio e adicionada 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu 10 % (10:90; v/v), e deixado em repouso durante 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL da solução carbonato de sódio 4% (4:96; m/v) e os tubos deixados em repouso por 2 horas, no escuro. A absorbância foi medida em espectrofotômetro BEL Photonics SP1105 a 740 nm. O ácido gálico, nas concentrações que variaram de 5 a 80 µg mL<sup>-1</sup>, foi utilizado como padrão. Os resultados foram expressos em equivalente ácido gálico (mg EAG 100 mL<sup>-1</sup> suco).

### 3.2.4 β-caroteno

O conteúdo de β-caroteno foi determinado conforme método de Nagata e Yamashita (1992). Uma amostra de 1,0 mL de suco foi adicionada a 10 mL do solvente (6 mL de hexano/4 mL de acetona). Depois, o extrato foi homogeneizado com Ultraturrax durante um minuto e centrifugado a 2000 g durante 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido para leitura. Para calcular os teores presentes na amostra, utilizou-se a seguinte equação:

$$\beta\text{-caroteno} = 0,216A_{663} - 1,22A_{645} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453}$$

Onde:  $A_{663}$ ,  $A_{645}$ ,  $A_{505}$  e  $A_{453}$  são as absorbâncias da leitura da amostra a 663, 645, 505 e 453 nm, respectivamente. Os resultados foram expressos em mg 100 mL<sup>-1</sup> de suco.



### 3.2.5 Ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado por titulação com 2,6-dicloro-fenol-indofenol (DCFI), com modificações propostas por Benassi e Antunes (1988). Os resultados foram expressos em mg 100 mL<sup>-1</sup> de suco.

### 3.2.6 Atividade antioxidante

#### 3.2.6.1 Obtenção do extrato

O extrato foi preparado com a adição de 2,0 mL de suco em 7,0 mL do solvente etanol 80% em água (v/v). Depois o extrato foi homogeneizado em Vortex por 30 seg e, em seguida, dispersado com Ultraturrax por um minuto. Depois foi centrifugado a 2000 g por 10 min e filtrado em filtro de papel qualitativo (15 µm). Todo o procedimento ocorreu no escuro e em triplicata. Ao final, os extratos foram armazenados a -24 °C aguardando as análises.

#### 3.2.6.2 Método DPPH

A atividade antioxidante do suco do maracujá-amarelo foi avaliada por meio da sua capacidade de sequestro de radical DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), baseada no método proposto por De Ancos et al. (2002). Em ambiente escuro, a alíquota de 150 µL do extrato foi adicionada a 850 µL da solução de DPPH (60 µmol L<sup>-1</sup>), e deixado em repouso por 30 minutos no escuro. Procedeu-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 515 nm. Utilizou-se como padrão o ácido ascórbico nas concentrações de 10, 15, 24, 37, 56 e 85 µg mL<sup>-1</sup> para construir a curva de calibração. A partir da equação ajustada, realizou-se o cálculo da concentração de atividade antioxidante, expressa em equivalente ácido ascórbico EAA (mg EAA 100 mL<sup>-1</sup> de suco).

#### 3.2.6.3 Método TEAC ('Trolox Equivalent Antioxidant Capacity')

A atividade antioxidante pelo método TEAC estima a capacidade da amostra em sequestrar o radical ABTS<sup>•+</sup> [*2,2'-azino-bis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)*] e foi realizada conforme metodologia descrita por Re et al. (1999), com algumas modificações. O radical ABTS<sup>•+</sup> foi formado pela reação de 140 mmol L<sup>-1</sup> de persulfato de potássio com 7

mmol L<sup>-1</sup> de ABTS<sup>•+</sup>, armazenado no escuro a temperatura ambiente, por 16 horas. Depois, o radical ABTS<sup>•+</sup> foi diluído com etanol até a obtenção do valor de absorvância entre 0,700 e 0,734 nm ( $\pm$  0,05 nm). Em ambiente escuro transferiu-se uma alíquota de 30 $\mu$ L de cada diluição do extrato para tubos de ensaio e adicionou-se 3,0 mL do radical ABTS<sup>•+</sup>. Realizou-se a leitura a 734 nm após 6 minutos da reação e foi utilizado o etanol como branco. A curva padrão foi ajustada com Trolox [(+/-)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid] nas concentrações 0,02; 0,12; 0,25; 0,37 e 0,50  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>. Os resultados da atividade antioxidante do suco foram calculados de acordo com a equação ajustada com o padrão e expressos em equivalente Trolox ( $\mu$ g ETrolox 100 mL<sup>-1</sup>).

### 3.2.7 Qualidade física

A qualidade física do fruto do maracujá-amarelo foi avaliada de acordo com as variáveis perdas de massa fresca, enrugamento e cor da casca do fruto. A perda de massa foi determinada através da diferença entre a massa fresca inicial das unidades experimentais e a massa no dia da amostragem, expressa em %. O enrugamento foi determinado subjetivamente, através de exame visual utilizando um índice numérico de escalas de notas onde: 1= casca totalmente lisa; 2= mais lisa do que enrugada, 3= porções de casca igualmente lisa e enrugada; 4=mais enrugada do que lisa; 5= totalmente enrugada. A variação da cor da casca foi determinada subjetivamente através de um índice de escala numérica variando de 1 (100% da casca verde) até 5 (100% amarela).

### 3.2.8 Índice de degradação patogênica

O índice de degradação patogênica foi determinado de acordo com Cao et al. (2011). As amostras de cada repetição foram avaliadas visualmente e a incidência de patógenos foi estimada por um índice de acordo com uma escala de quatro pontos, onde 0 = sadio ou nenhum fruto atacado, 1 = leve incidência, < 25% da superfície dos frutos atacados, 2 = incidência moderada, cobrindo superfície > 25%, mas inferior a 50% da superfície dos frutos, 3 = incidência severa, cobrindo mais de 50% da superfície dos frutos. O índice de degradação por patógenos foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de degradação patogênica} = (1 \times N_1 + 2 \times N_2 + 3 \times N_3) \times [100 \div (3 \times N)]$$

Onde  $N$  é o número total de frutos avaliados (10 frutos) e  $N_1$ ,  $N_2$  e  $N_3$  o número de

frutos atacados por nota de incidência (1, 2 ou 3). A identificação de fungos foi realizada por microscopia. (FRANCO E LANDGRAF, 1996).

### 3.2.9 Análise estatística

Foi aplicada a análise de variância e aos parâmetros que apresentaram efeito significativo pelo teste F, suas médias (n=5) foram comparadas pelo teste Fisher-LSD. A análise de correlação linear de Pearson foi aplicada entre as variáveis. O nível de significância a  $p < 0,05$  foi utilizado em todas as análises. O pacote estatístico GENES (CRUZ, 2006) foi utilizado nas análises.

## 3.3 Resultados e Discussão

Frutos em estágio de maturação verde-amarelo (predominantemente verde) foram utilizados. Por isto, considerações sobre o padrão respiratório climatérico, típico das espécies de *Passiflora*, foram relevantes neste estudo, pois refletem as reações metabólicas do amadurecimento do fruto, conduzindo a mudanças físicas e químicas no órgão que, irreversivelmente, levam à sua senescência (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Na análise de variância foram considerados apenas os resultados obtidos até o período de 20 dias de armazenamento, pois nas avaliações aos 30 e 40 dias e a 24 °C, os frutos se apresentaram impróprios para análises devido ao elevado índice de degradação. Assim, a Tabela 1 mostra os coeficientes de significância para os efeitos da temperatura e do tempo de armazenamento. Não foi aplicada a análise de variância nos resultados de índice de degradação patogênica, cujos valores calculados são meramente descritivos.

Tabela 2 - Coeficientes de significância da análise de variância para os efeitos da temperatura (5 e 24 °C) e tempo de armazenamento (até 20 dias) do maracujá-amarelo.

Fonte de variação	Fenólicos totais	$\beta$ -caroteno	Ácido ascórbico	AA <sup>a</sup> DPPH	AA <sup>a</sup> TEAC	Perda de massa	Índice de enrugamento	Índice de cor
Temperatura	ns	ns	*	ns	ns	**	**	**
Tempo	**	ns	ns	*	ns	**	**	**
Temperatura x tempo	ns	ns	*	ns	ns	**	**	**
CV <sup>b</sup> , %	1,76	31,95	20,67	9,80	10,23	20,30	11,70	19,24

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; ns não significativo a  $p < 0,05$ . <sup>a</sup> Atividade antioxidante; <sup>b</sup> Coeficiente de variação.

### 3.3.1 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do suco do maracujá-amarelo foi determinada pelos métodos DPPH e TEAC, conforme resultados apresentados na Figura 1. De acordo com os resultados da análise de variância (Tabela 1), não foi detectado efeito significativo da temperatura sobre a atividade antioxidante do suco do maracujá-amarelo nas duas metodologias utilizadas, e o tempo de armazenamento foi significativamente capaz de influenciar a atividade antioxidante apenas no método DPPH. De acordo com a Figura 1a, a capacidade do suco em sequestrar o radical DPPH decresceu durante o armazenamento até 30 dias.

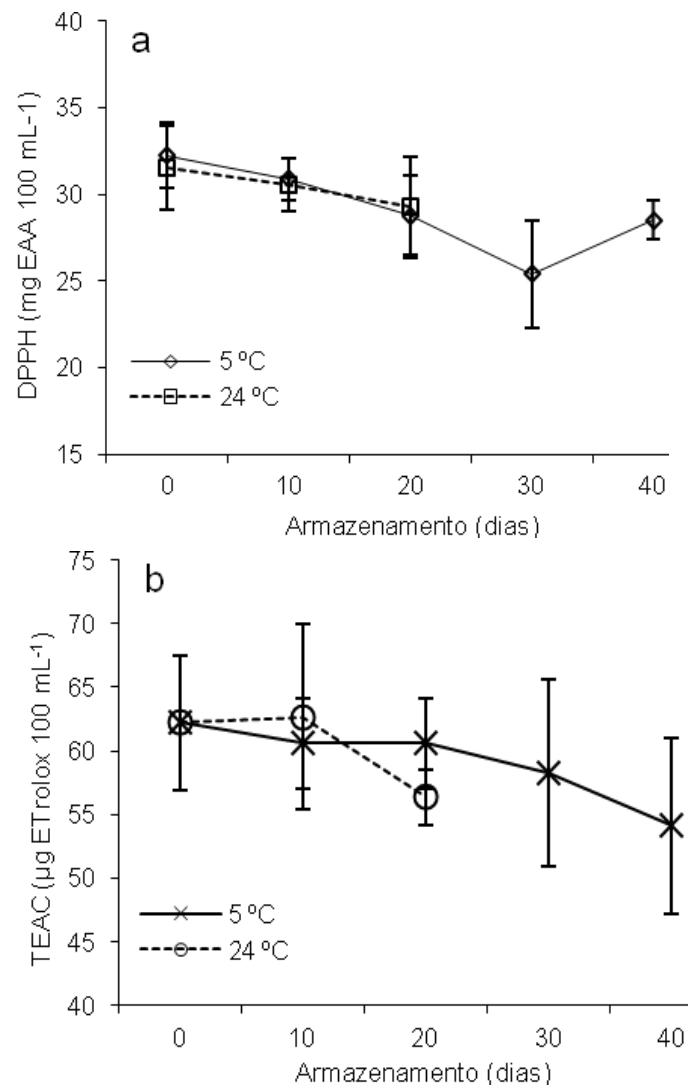


Figura 6 - Atividade antioxidante DPPH (a) e TEAC (b) do suco do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. As linhas verticais representam o desvio padrão (n=5). Na Figura a, EAA = equivalente ácido ascórbico.

Correlações significativas foram verificadas entre a atividade antioxidante DPPH e compostos fenólicos totais,  $\beta$ -caroteno e ácido ascórbico (Tabela 3), porém os coeficientes foram negativos e com valores baixos (-0,55, -0,33 e -0,40, respectivamente), não dando indícios claros da relação dos compostos antioxidantes com os resultados encontrados pelo método DPPH. Também foi verificado que não houve correlações significativas da atividade antioxidante medida pelo método TEAC, com os compostos antioxidantes analisados. No entanto, os resultados da Figura 1b sugerem diminuições na atividade antioxidante TEAC, nas duas temperaturas de armazenamento, mas os elevados desvios das médias não validam estatisticamente esta tendência, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 3 - Coeficientes de correlação linear de Pearson para as combinações entre as variáveis químicas e físicas do maracujá-amarelo durante o armazenamento.

Variáveis	$\beta$ -caroteno	Ácido ascórbico	DPPH	TEAC	Perda de massa	Índice de enrugamento	Índice de degradação	Índice de cor
Fenólicos totais	0,07 <sup>ns</sup>	0,23 <sup>ns</sup>	-0,55**	-0,16 <sup>ns</sup>	0,62**	0,65**	0,35*	0,48**
$\beta$ -caroteno		0,21 <sup>ns</sup>	-0,33*	0,00 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>	-0,04 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>
Ácido ascórbico			-0,40**	0,01 <sup>ns</sup>	-0,11 <sup>ns</sup>	-0,11 <sup>ns</sup>	-0,33*	0,44**
DPPH				0,10 <sup>ns</sup>	-0,55**	-0,53**	-0,19 <sup>ns</sup>	-0,41*
ABTS					-0,35*	-0,36*	-0,36*	-0,01 <sup>ns</sup>
Perda de massa						0,99**	0,78**	0,31*
Índice de enrugamento							0,78**	0,25 <sup>ns</sup>
Índice de degradação								-0,22 <sup>ns</sup>

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; <sup>ns</sup> não significativo a  $p < 0,05$

A atividade antioxidante em vegetais é devida a ação de uma grande variedade de compostos antioxidantes, que são degradados ou sintetizados de acordo com o estado fisiológico e com os níveis de estresses abióticos e bióticos sofridos pelo órgão durante o armazenamento. No caso do maracujá-amarelo, a refrigeração não foi favorável à manutenção da atividade antioxidante, com resultados semelhantes aos encontrados para o armazenamento a 24 °C. Em contraste, Javanmardi e Kubota (2006), em trabalho similar com armazenamento de tomates, encontraram aumento na atividade antioxidante (TEAC) dos frutos durante o armazenamento refrigerado.

### 3.3.2 Qualidade física

Os efeitos da temperatura e do tempo de armazenamento do maracujá-amarelo foram significativos ( $p < 0,01$ ) para a perda de massa e para o enrugamento (Tabela 1), mostrando a alta suscetibilidade dos frutos a esses danos físicos, conforme verificado também por Mota et al. (2003), Mota et al. (2006) e Hafle et al. (2010). Foi verificado que os frutos armazenados a 24 °C começaram um rápido processo de desidratação, com conseqüente perda de massa fresca (Figura 2a) e enrugamento (Figura 2b). Tais processos depreciam a aparência visual do fruto, reduzindo seu valor comercial. Frutos armazenados a 5 °C apresentaram maior retenção de massa fresca, mantendo-se mais túrgidos e com melhores condições de comercialização. Resultados semelhantes também foram verificados por Mota et al. (2006) e Hafle et al. (2010).

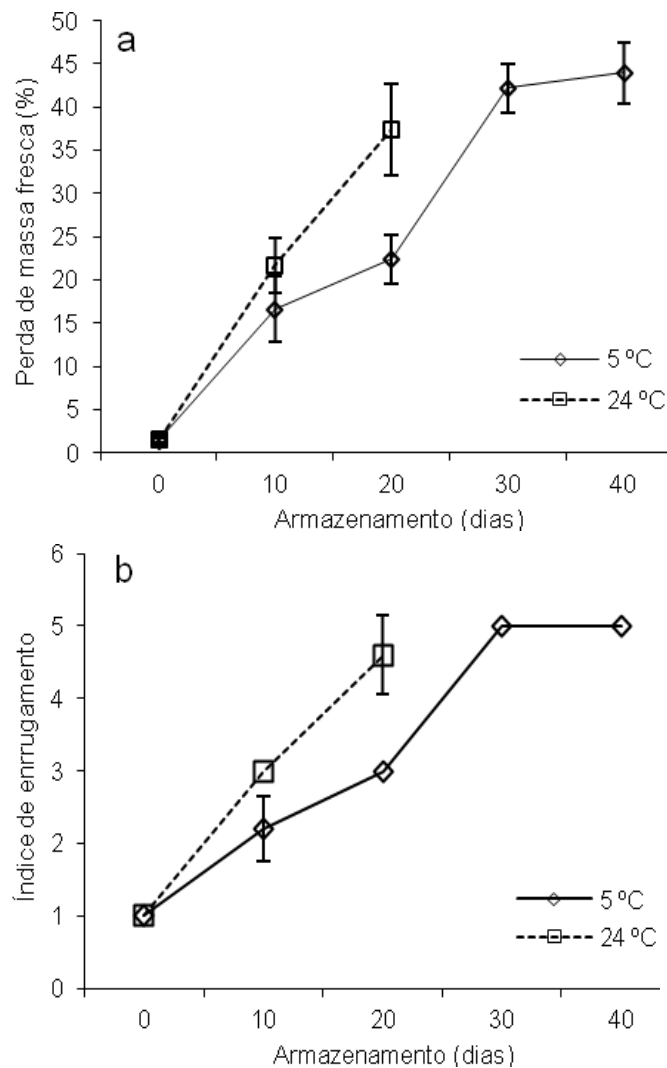


Figura 7 - Perda de massa fresca (a) e índice de enrugamento (b) do fruto do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. As linhas verticais representam o desvio

padrão (n=5). No índice de enrugamento, 1= casca totalmente lisa; 2= mais lisa do que enrugada, 3= porções de casca igualmente lisa e enrugada; 4=mais enrugada do que lisa; 5= totalmente enrugada.

Os resultados da Figura 2b mostram que o enrugamento aumentou durante o armazenamento, mas a 24 °C os níveis foram mais elevados até 20 dias de armazenamento. Embora a temperatura de 5 °C tenha desacelerado o processo de enrugamento da casca, o índice máximo (5) foi alcançado aos 30 dias de armazenamento. O enrugamento da casca do fruto é um critério comercial importante, pois o maracujá é comercializado a granel, e o consumidor compra os frutos pela aparência. A perda de água do fruto, que leva ao enrugamento, é influenciada por vários fatores, entre eles o estágio de maturação, relação superfície/volume, temperatura e umidade relativa do ambiente (CHITARRA e CHITARRA, 2005). A redução da perda de massa é possível pelo uso de tecnologias das mais diversas complexidades e custos, a exemplo do uso de filmes plásticos associados ao uso de ceras e refrigeração (HAFLE et al., 2010). Porém, essas tecnologias podem elevar os custos de comercialização, necessitando de outras investigações sobre sua viabilidade econômica.

Houve aumento significativo no índice de cor da casca (amarelecimento) do maracujá-amarelo armazenado a 24 °C, refletindo o amadurecimento em níveis mais elevados comparado ao armazenamento a 5 °C (Figura 3a). A temperatura é o principal fator de influência no metabolismo fisiológico pós-colheita de frutos e, no caso do maracujá, que apresenta padrão climatérico, o aumento da temperatura induz níveis elevados de atividade metabólica (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Neste caso, no armazenamento a 24 °C, as vias metabólicas com níveis mais elevados de oxidação enzimática de clorofila da casca, levaram a um aumento da tonalidade amarela. A mudança de cor em folhas e frutos ocorre devido à degradação da clorofila, revelando os pigmentos amarelos de compostos carotenoides preexistente ou sintetizados (UENOJO; MARÓSTICA-JUNIOR; PASTORE, 2007). A presença da cor amarela no maracujá é importante para o seu comércio, pois é um dos atributos por meio do qual o consumidor avalia a maturidade e a qualidade dos frutos.

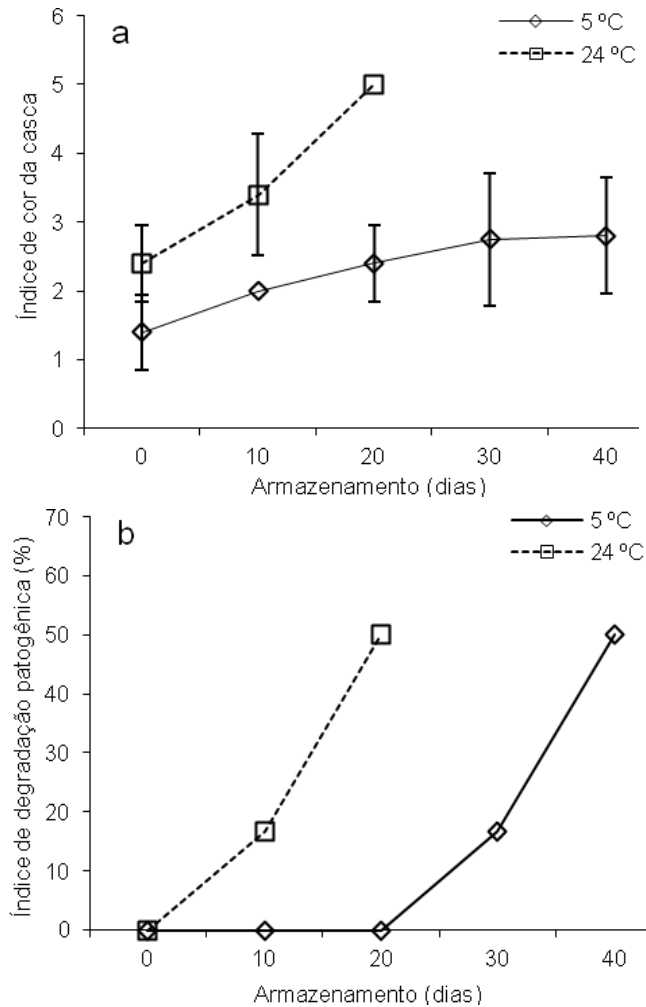


Figura 8 - Índice de cor da casca (a) e índice de degradação patogênica (b) do fruto do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. Na Figura a, índice de cor varia de 1 (100% da casca verde) até 5 (100% amarela) e as linhas verticais representam o desvio padrão (n=5). Na Figura b, os valores observados são calculados de 10 frutos.

Os resultados do índice de degradação patogênica do maracujá-amarelo durante o armazenamento são apresentados na Figura 3b. Os dados observados refletem o nível de degradação por patógenos de acordo com a severidade de ataque superficial em cada fruto e com o número de frutos atacados. Os frutos armazenados a 24 °C apresentaram índices de degradação de 16,7 % aos 10 dias, enquanto que a 5 °C os mesmos índices foram encontrados aos 30 dias de armazenamento, evidenciando o efeito inibidor da refrigeração sobre o desenvolvimento de patógenos no maracujá-amarelo. Os maiores índices de degradação patogênica (50%) foram encontrados nos frutos armazenados a 24 °C aos 20 dias e a 5 °C aos 40 dias. O fungo *Penicillium* ssp. foi identificado nos frutos por análise microscópica e foi responsável pelos sintomas de degradação.

Temperaturas elevadas induzem aumento na velocidade de reações metabólicas em frutos, com transformações químicas e físicas que tornam os tecidos mais suscetíveis à perda



de umidade e ao ataque de patógenos (KADER, 2002). Assim, o controle do metabolismo dos frutos com a refrigeração a 5 °C foi determinante na manutenção da qualidade e proporcionou maior vida útil dos maracujás, que não apresentaram sintomas de degradação por patógenos até 20 dias de armazenamento refrigerado (Figura 3b). Isso comprova a importância do ambiente refrigerado na manutenção da qualidade dos frutos armazenados.

Em relação a qualidade física dos frutos, observou-se alta correlação (0,99) entre a perda de massa fresca e o enrugamento (Tabela 2), indicando que existe uma relação altamente dependente entre essas duas variáveis. O índice de degradação por patógeno apresentou correlação significativa com a perda de massa fresca (0,78;  $p < 0,01$ ) e com o enrugamento (0,78;  $p < 0,01$ ), mas foi não significativo com o índice de cor da casca (-0,22), indicando que os níveis de incidência ou severidade dos sintomas patogênicos nos frutos têm estreita relação com reações que envolvem a transpiração dos frutos.

Fica evidente, com os resultados, que a vida útil comercial do maracujá-amarelo pode ser comprometida no armazenamento em temperatura ambiente e que as alterações durante o armazenamento são muito mais evidentes e comprometedoras na aparência do fruto do que na qualidade do suco, e uma análise microbiológica do suco pode evidenciar outras considerações. Ficou demonstrada também a elevada sensibilidade dos frutos de maracujá-amarelo aos processos de degradação física, relacionados à perda de massa fresca e desenvolvimento de patógenos.

### 3.3.3 Compostos antioxidantes

A composição antioxidante do suco do maracujá-amarelo foi avaliada para os conteúdos de fenólicos totais,  $\beta$ -caroteno e ácido ascórbico. Esses compostos foram quantificados nas frações do suco e estão relacionados com o seu mecanismo bioquímico antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008). De acordo com a Tabela 1, houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) da temperatura apenas para o ácido ascórbico e o tempo de armazenamento influenciou significativamente ( $p < 0,01$ ) apenas no conteúdo de fenólicos totais. Acréscimos no conteúdo de compostos fenólicos totais foram verificados até 20 dias de armazenamento nas duas temperaturas testadas (Figura 4). Esses acréscimos podem estar relacionados com o amadurecimento dos frutos, uma vez que houve correlação significativa (0,48;  $p < 0,01$ ) entre compostos fenólicos totais e índice de cor da casca (Tabela 2), ou seja, houve correlação com o aumento da cor amarela da casca do fruto, que expressa o seu amadurecimento.

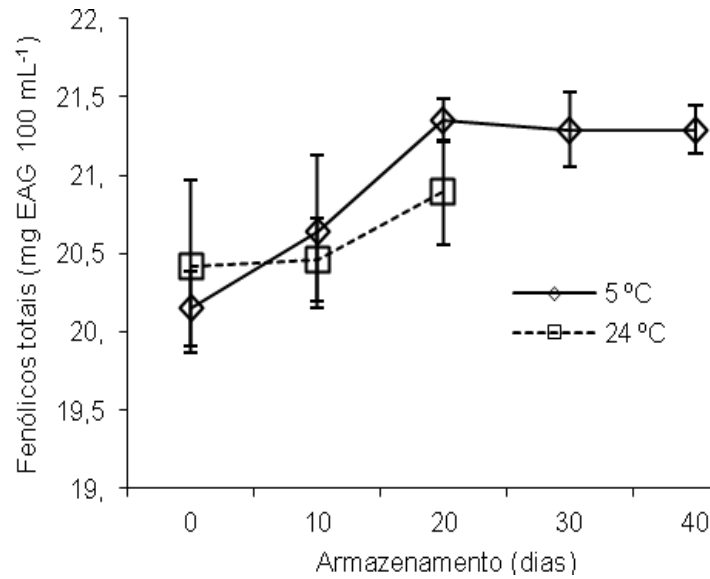


Figura 9 - Compostos fenólicos totais do suco do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. As linhas verticais representam o desvio padrão (n=5).

Compostos fenólicos são substâncias do metabolismo secundário vegetal, com diferentes funções fisiológicas. Respostas fisiológicas do fruto devido ao metabolismo normal da maturação (TAIZ; ZEIGER, 2006) ou devido a estresses pós-colheita envolvendo temperatura, transpiração, oxigênio e patógenos (ROUSSOS et al., 2007), estão relacionados à expressão gênica do órgão na síntese de compostos fenólicos. Adicionalmente, a elevação no conteúdo de fenólicos totais contribui para aumentar a ingestão de antioxidantes na dieta humana, que varia, em uma dieta normal, entre 0,15 e 1,0 g dia<sup>-1</sup> (RIBEIRO et al., 2007).

A composição fenólica de frutos é determinada por fatores genéticos e ambientais, mas podem ser modificados através de reações oxidativas durante o armazenamento de frutos. Dois dos processos mais importantes relacionados a composição fenólica estão envolvidos com atividade antioxidante dos fenóis e com escurecimento oxidativo (ROBARDS et al., 1999), ambos os processos relacionados a estresses fisiológicos. No entanto, considerando o caráter ácido do suco do maracujá-amarelo, com pH entre 3,5 e 3,8 (REOLON; BRAGA; SALIBE, 2009), os mecanismos envolvidos nas alterações de compostos antioxidantes do suco, frente aos estresses pós-colheita bióticos e abióticos, devem ser melhor esclarecidos, uma vez que muitas reações bioquímicas são inibidas em baixo pH, sobretudo em nível enzimático.

O conteúdo de  $\beta$ -caroteno no suco do maracujá-amarelo (Figura 5a) não sofreu influência significativa da temperatura ou do tempo de armazenamento do fruto (Tabela 1).

Esses resultados não significativos foram influenciados pelo elevado coeficiente de variação (31,95 %). Isso mostra que apesar da condição estressante devido a perda de massa fresca (Figura 2a) e desenvolvimento de patógenos no fruto (Figura 3b), bem como devido às reações oxidativas do metabolismo de amadurecimento nas etapas iniciais de armazenamento, houve retenção de  $\beta$ -caroteno no suco, com conteúdo médio total ao redor de  $44 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  durante o armazenamento.

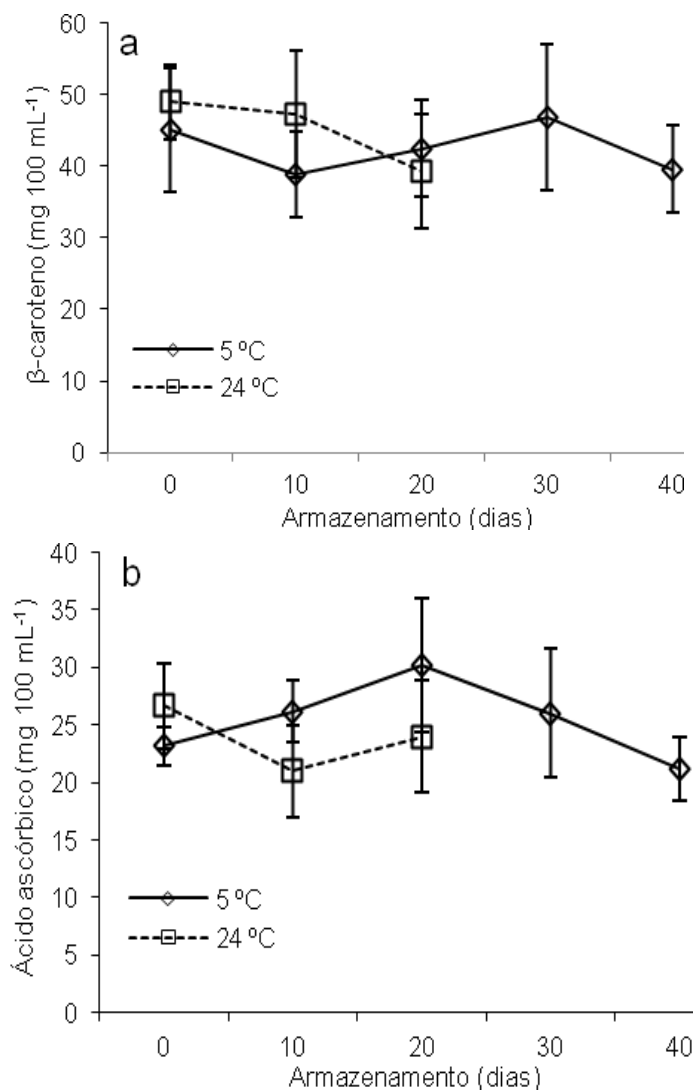


Figura 10 - Conteúdos de  $\beta$ -caroteno (a) e ácido ascórbico (b) do suco do maracujá-amarelo armazenado em diferentes temperaturas. As linhas verticais representam o desvio padrão (n=5).

De acordo com Uenojo, Maróstica-Junior, Pastore (2007), os níveis de carotenoides em células de frutas são mantidos relativamente constantes até o início da senescência e que dois tipos de enzimas são responsáveis pela oxigenação e degradação dos carotenoides: as

lipoxigenases, advindas dos cloroplastos, que catalisam a conversão de lipídios insaturados a compostos de aroma; e peroxidases, da mitocôndria. A retenção de  $\beta$ -caroteno no suco do maracujá-amarelo durante o armazenamento revela o benefício vantajoso sob o aspecto de manutenção de sua fitodisponibilidade nutricional. O  $\beta$ -caroteno desempenha papel fundamental na saúde humana, sendo precursor da vitamina A e essencial para a visão. Outros efeitos benéficos dos carotenoides contra certos tipos de câncer e doenças do coração foram reconhecidos e estimularam intensas investigações sobre o papel desses compostos como antioxidantes e como reguladores de resposta do sistema imune (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000).

O tempo de armazenamento não causou efeito significativo no conteúdo de ácido ascórbico, mas foi significativamente influenciado ( $p < 0,05$ ) pela temperatura (Tabela 1), no entanto, a interação significativa entre os fatores sugere que a temperatura de armazenamento tenha influenciado resultados diferentes, o que pode ser verificado até os 10 dias de armazenamento, quando houve decréscimo de ácido ascórbico do suco a 24 °C e acréscimo a 5 °C (Figura 5b).

Sintomas de amadurecimento dos frutos foram observados durante o armazenamento, através dos aumentos de cor amarela da casca (Figura 3a), sobretudo para os frutos armazenados a 24 °C. Níveis de temperatura entre 20 e 25 °C são considerados fisiologicamente ideais para frutos climatéricos (CHITARRA e CHITARRA, 2005) e, neste caso, a maior intensidade de reações metabólicas dos frutos a 24 °C pode ter influenciado na diminuição do conteúdo de ácido ascórbico no início do armazenamento (Figura 5b). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Coelho, Cenci e Resende (2010), que relataram diminuição de ácido ascórbico nos estágios iniciais de amadurecimento do maracujá a 22 °C. Os mesmos autores reportaram níveis de ácido ascórbico similar aos encontrados neste trabalho, com variações entre 25 e 30 mg 100 mL<sup>-1</sup>. Segundo Lee e Kader (2000), o conteúdo de ácido ascórbico em frutos sofre forte influência do metabolismo normal (maturação e senescência) e de outros estresses pós-colheita.

A manutenção dos níveis de ácido ascórbico em órgãos vegetais é rigidamente controlada por níveis de síntese, degradação, reciclagem e transporte dentro da célula (STEVENS et al., 2008). Devido ao papel antioxidante do ácido ascórbico, a via de reciclagem no fruto é especialmente importante durante a resposta do órgão a estresses oxidativos, quando o ácido ascórbico reduzido é oxidado para sua forma instável de ácido deidroascórbico, que pode ser facilmente degradado. De acordo com Smirnoff e Wheeler (2000), a forma reduzida do ácido ascórbico pode ser esgotada se as formas oxidadas não

forem recuperadas por enzimas redutases (monodeidroascorbato e deidroascorbato redutase), expressas geneticamente em resposta a estresses oxidativos. Os processos de síntese e reciclagem podem explicar a manutenção e os aumentos no conteúdo de ácido ascórbico até 20 dias de armazenamento para os maracujás armazenados a 5 °C e dos 10 aos 20 dias no armazenamento a 24 °C (Figura 5b). A partir de 20 dias de armazenamento, a diminuição do ácido ascórbico sugere a prevalência de processos degradativos.

### 3.4 Conclusões

Os efeitos da temperatura de armazenamento são mais evidentes e impactantes na aparência do fruto do que na qualidade nutricional do suco de maracujá-amarelo. Os teores de compostos fenólicos totais e  $\beta$ -caroteno, e a atividade antioxidante do suco não foram influenciados pela temperatura de armazenamento. O conteúdo de compostos fenólicos totais do suco aumentou com o tempo de armazenamento. A atividade antioxidante do suco, expressada em sequestro do radical DPPH, diminuiu durante o armazenamento. Com base na qualidade microbiológica, a vida útil do maracujá-amarelo se estendeu até 20 dias no armazenamento refrigerado.

### 3.5 Referências

- BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 31, n. 4, p. 507-513, 1988.
- CAO, S.; HU, Z.; ZHENG, Y.; YANG, Z.; LU, B. Effect of BTH on antioxidant enzymes, radical-scavenging activity and decay in strawberry fruit. **Food Chemistry**, Barking, v. 125, n. 1, p. 145-149, 2011.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESALQ/FAEPE, 2005. 785 p.
- COELHO, A. A.; CENCI, S. A.; RESENDE, E. D. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes pontos de colheita e após o amadurecimento. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 34, n. 3, p. 722-729, 2010.
- CRUZ, C. D. **Programa genes: biometria**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 382 p.
- DE ANCOS, B.; SGROPPO, S.; PLAZA, L.; CANO, M. P. Possible nutritional and health-related value promotion in orange juice preserved by high-pressure treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 82, n. 8, p. 790-796, 2002.

- DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains- characteristics, biosynthesis, processing, and storage. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 40, n. 3, p. 173-289, 2000.
- DURIGAN, J. F.; SIGRIST, J. M. M.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; VIEIRA, G. Qualidade e tecnologia pós-colheita do maracujá. In: LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas: Embrapa, 2004. p. 283-303.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.
- HAFLE, O. M.; COSTA, A. C.; SANTOS, V. M.; SANTOS, V. A.; MOREIRA, R. A. Características físicas e químicas do maracujá-amarelo tratado com cera e armazenado em condição ambiente. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Fortaleza, v. 5, n. 3, p. 341-346, 2010.
- HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 8, p. 2928- 2935, 2005.
- JAVANMARDI, J.; KUBOTA, C. Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, Oxford, v. 41, n. 2, p. 151-155, 2006.
- KADER, A. A. **Postharvest technology of horticultural crops**. 3. ed. Oakland: University of California, 2002. 519 p.
- LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 207-220, 2000.
- LIMA, A. A. **Maracujá produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 104 p. (Frutas do Brasil, 15).
- MOTA, W. F.; SALOMÃO, L. C. C.; CECON, P. R.; FINGER, F. L. Waxes and plastic film in relation to the shelf life of yellow passion fruit. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 51-57, 2003.
- MOTA, W. F.; SALOMÃO, L. C. C.; NERES, C. R. L.; MIZOBUTSI, G. P.; NEVES, L. L. M. Uso de cera-de-carnaúba e saco plástico poliolefinico na conservação pós-colheita do maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 190-193, 2006.
- NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology**, Kyoto, v. 39, n. 10, p. 928-928, 1992.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M. E.; SERRANO,

J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, Essex, v. 41, n. 3, p. 274-285, 2008.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

REOLON, C. A.; BRAGA, G. C.; SALIBE, A. B. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo em diferentes estádios de maturação. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 27, n. 2, p. 305-312, 2009.

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; QUEIROZ, M. E. L. R.; CAMPOS, F. M.; SANT'ANA, H. M. P. Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 62, n. 1, p. 13-17, 2007.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, Barking, v. 66, n. 4, p. 401-436, 1999.

ROUSSOS, P. A.; MATSOUKIS, A.; PONTIKIS, C. A.; CHRONOPOULOU-SERELI, A. Relations of environmental factors with the phenol content and oxidative enzyme activities of olive explants. **Scientia Horticulturae**, Scottsville Pietermaritzburg, v. 113, n. 1, p. 100-102, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, Barking, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SAMPAIO, A. C.; FUMIS, T. F.; ALMEIDA, A. M.; PINOTTI, R. N.; GARCIA, M. J. M.; PALLAMIN, M. L. Manejo cultural do maracujazeiro-amarelo em ciclo anual visando à convivência com o vírus do endurecimento dos frutos: um estudo de caso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 343-347, 2008.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Orlando, v. 299, n. 1, p. 152-178, 1999.

SMIRNOFF, N.; WHEELER, G. L. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, Boca Raton, v. 35, n. 4, p. 291-314, 2000.

SOUZA, S. L.; MOREIRA, A. P. B.; SANTANA, H. M. P.; ALENCAR, E. R. Conteúdo de carotenos e provitamina A em frutas comercializadas em Viçosa, Estados de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 4, p. 453-459, 2004.

STEVENS, R.; PAGE, D.; GOUBLE, B.; GARCHERY, C.; ZAMIR, D.; CAUSSE, M. Tomato fruit ascorbic acid content is linked with monodehydroascorbate reductase activity and tolerance to chilling stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 31, n. 8, p. 1086-1096, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 4. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2006. 705 p.

TALCOTT, S. T.; PERCIVAL, S. S.; PITTET-MOORE, J.; CELORIA, C. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 4, p. 935-941, 2003.

UENOJO, M.; MARÓSTICA-JUNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma, **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007.

VEBERIC, R.; COLARIC, M.; STAMPAR, F. Phenolic acids and flavonoids of fig fruit (*Ficus carica* L.) in the northern Mediterranean region. **Food Chemistry**, Barking, v. 106, n. 1, p. 153-157, 2008.



## **4 EXPERIMENTO 2 - RESPOSTA BIOQUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO MARACUJÁ-AMARELO DURANTE ARMAZENAMENTO EM ATMOSFERA MODIFICADA**

### **4.1 Introdução**

O maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) é a espécie de *Passiflora* mais cultivada no Brasil, que se destaca como o maior produtor mundial. É uma fruta muito apreciada pelo aroma e sabor intensos do seu suco (SAMPAIO et al., 2008). Na composição química do suco do maracujá-amarelo são encontradas substâncias voláteis e não voláteis, as quais definem seus atributos sensoriais e nutricionais. Com relação à fração não volátil, os frutos são ricos em minerais, vitaminas (LIMA, 2002), compostos fenólicos (TALCOTT et al., 2003) e carotenoides (SOUZA et al., 2004). A presença de  $\beta$ -caroteno no maracujá-amarelo é responsável pela cor amarelada típica do suco (UENOJO; MARÓSTICA-JUNIOR; PASTORE, 2007).

O acúmulo de vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides em frutos é variável e depende, entre muitos fatores, do estágio de maturação e das condições de armazenamento (VEBERIC; COLARIC; STAMPAR, 2008). Tais compostos são sintetizados por vias metabólicas durante o desenvolvimento e maturação de frutos com diferentes funções bioquímicas e físicas no órgão, participando em mecanismos de defesa e atratividade, e como antioxidantes (KADER, 2002; CHITARRA e CHITARRA, 2005).

O consumo de frutas tropicais tem aumentado em nível nacional e internacional devido ao crescente reconhecimento de seu valor nutricional e terapêutico. Neste aspecto, tem sido dado grande destaque a atividade antioxidante de compostos presentes nas frutas, por possuírem potencial de reduzir o nível de estresse oxidativo celular (RUFINO et al., 2009; HASSIMOTTO; COLARIC; STAMPAR, 2005). Segundo Pietta (2000) os antioxidantes são substâncias que reduzem o dano oxidativo das células, bloqueando os radicais livres e prevenindo a formação de algumas doenças. A capacidade antioxidante tem sido expressa utilizando diferentes metodologias in vitro, incluindo, entre outras, a capacidade sequestradora de radicais peroxil (ORAC- oxygen radical absorbance capacity), capacidade de redução do metal (FRAP-ferric reducing antioxidant power), capacidade sequestradora de radical orgânico (ABTS-2,2'-azino-bis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) e capacidade sequestradora do radical oxidante DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), e pelo menos dois

desses ensaios (ou mesmo todos), devem ser combinados para prover uma análise confiável da capacidade antioxidante total em uma matriz alimentícia (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008).

Na fase pós-colheita, diversas e importantes alterações decorrentes de fatores de natureza física, fisiológica e patológica podem ocorrer, as quais interferem na conservação e nas características físico-químicas e nutricionais das frutas, e se expressam desde a colheita até o consumo. Depois do seu desligamento da planta, o maracujá-amarelo se predispõe a uma rápida desidratação do pericarpo acompanhada de murchamento, caracterizando a principal alteração pós-colheita do fruto, com depreciação da sua qualidade comercial (DURIGAN et al., 2004; LIMA, 2002). Para uma boa aceitação dos consumidores, os frutos devem estar túrgidos, com a casca amarela, lisa ou pouco enrugada e sem manchas, além da ausência de defeitos que possam afetar a qualidade da polpa, decorrentes da presença de fungos ou ataque de insetos (FISCHER et al., 2007).

O escurecimento enzimático está relacionado à ação das enzimas polifenoloxidase (PFO) e peroxidase (POX), que utilizam compostos fenólicos como substratos e provocam alterações indesejáveis na cor, sabor e aroma (VALDERRAMA; MARANGONI; CLEMENTE, 2001). O escurecimento ocorre após danos causados aos tecidos durante os processos de colheita, transporte ou devido a outros estresses fisiológicos causados durante o armazenamento, como desenvolvimento de microrganismos patogênicos que, de maneira geral, levam a desestruturação celular e elevação dos níveis de compostos fenólicos, que são oxidados por enzimas fenoloxidasas, com formação de pigmentos escuros (MDLULI, 2005).

Na etapa de conservação pós-colheita, os processos metabólicos de frutos podem ser minimizados através da utilização da atmosfera modificada. Nesta técnica, a atmosfera no interior da embalagem é alterada pela presença de uma barreira artificial à difusão de gases em torno do produto, que resulta em redução do nível de O<sub>2</sub> e aumento do nível de CO<sub>2</sub>, além de redução na concentração de etileno e aumento na pressão de vapor d'água (TANO et al., 2007; SIVAKUMAR e KORSTEN, 2006). O uso de embalagens com atmosfera modificada tem sido estudado por vários pesquisadores, com a finalidade de diminuir o desenvolvimento de patógenos e o enrugamento, e aumentar a vida útil de frutas (SINGH e SINGH, 2012; BASTIAANSE et al, 2010; JERONIMO et al., 2007; VIEITES et al., 2006; LIMA et al., 2005; GUEVARA, 2003; RESENDE et al., 2001).

O uso de filme plástico à base de PVC (policloreto de vinila) é prático e eficiente, e tem sido muito utilizado no armazenamento em atmosfera modificada, principalmente quando associado ao armazenamento refrigerado (CHITARRA e CHITARRA, 2005), entretanto, pouca ou nenhuma pesquisa foi realizada sobre respostas bioquímicas do maracujá-amarelo

frente ao uso da atmosfera modificada, sobretudo com abordagens envolvendo a composição e atividade antioxidante. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do armazenamento em atmosfera modificada na atividade antioxidante, nos teores de compostos fenólicos totais, carotenoides, ácido ascórbico, acidez titulável e sólidos solúveis do suco do maracujá-amarelo e nas características físicas, microbiológica e enzimática da casca do fruto.

## **4.2 Material e Métodos**

### **4.2.1 Amostra**

Foram estudados frutos de maracujá-amarelo obtidos de pomar comercial no município de Corumbataí do Sul, PR, localizado a 24°06'03'' de latitude sul, 52°07'12'' de longitude oeste e a 601 m de altitude. Depois de colhidos, em abril de 2011, os frutos foram selecionados por uniformidade de tamanho e ausência de defeitos. Depois foram lavados e higienizados com solução de hipoclorito de sódio a 0,1 mL L<sup>-1</sup>, por imersão durante 3 minutos em temperatura ambiente e posterior secagem com papel toalha. Foram escolhidos frutos em estágio fisiológico em início de amadurecimento, ou seja, cor da casca predominantemente verde.

### **4.2.2 Armazenamento**

Os frutos foram acondicionados em bandejas de poliestireno expandido contendo dois frutos cada e embalados com filme de PVC (policloreto de vinila), condicionando a atmosfera modificada. Depois foram armazenados em câmara a 5 °C ( $\pm 2$  °C) e umidade relativa de 77 % ( $\pm 3$  %) e avaliados em intervalos de 10 dias, num período de 40 dias. Grupo controle de frutos não embalados (atmosfera normal) foi armazenado na mesma temperatura, por mesmo período, e também avaliado. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições.

A cada período de amostragem, o suco foi extraído dos frutos para as análises. Para a extração do suco, os frutos foram cortados transversalmente com uma faca de aço inoxidável e o poupa retirada, sendo separado o suco da semente com peneira plástica. As amostras de suco foram acondicionadas em tubo plástico com tampa e armazenadas sob congelamento a -24 °C.

### 4.2.3 Atividade antioxidante

#### 4.2.3.1 Obtenção do extrato

O extrato foi preparado com a adição de 2,0 mL de suco em 7,0 mL do solvente etanol 80% em água (v/v). Depois o extrato foi homogeneizado em Vortex por 30 seg e, em seguida, dispersado com Ultraturrax por um minuto. Depois foi centrifugado a 2000 g por 10 min e filtrado em filtro de papel qualitativo (15  $\mu$ m). Todo o procedimento ocorreu no escuro e em triplicata. Ao final, os extratos foram armazenados a -24 °C aguardando as análises.

#### 4.2.3.2 Método DPPH

A atividade antioxidante do suco do maracujá-amarelo foi avaliada por meio da sua capacidade de sequestro de radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), baseada no método proposto por de (ANCOS et al., 2002). Em ambiente escuro, a alíquota de 150  $\mu$ L do extrato foi adicionada a 850  $\mu$ L da solução de DPPH (60  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>), e deixado em repouso por 30 minutos no escuro. Procedeu-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 515 nm. Utilizou-se como padrão o ácido ascórbico nas concentrações de 10, 15, 24, 37, 56 e 85  $\mu$ g mL<sup>-1</sup> para construir a curva de calibração. A partir da equação ajustada, realizou-se o cálculo da concentração de atividade antioxidante, expressa em equivalente ácido ascórbico EAA (mg EAA 100 mL<sup>-1</sup> de suco).

#### 4.2.3.3 Método TEAC ('Trolox Equivalent Antioxidant Capacity')

A atividade antioxidante pelo método TEAC estima a capacidade da amostra em sequestrar o radical ABTS<sup>•+</sup> [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)] e foi realizada conforme metodologia descrita por Re et al. (1999), com algumas modificações. O radical ABTS<sup>•+</sup> foi formado pela reação de 140 mmol L<sup>-1</sup> de persulfato de potássio com 7 mmol L<sup>-1</sup> de ABTS<sup>•+</sup>, armazenado no escuro a temperatura ambiente, por 16 horas. Depois, o radical ABTS<sup>•+</sup> foi diluído com etanol até a obtenção do valor de absorbância entre 0,700 e 0,734 nm ( $\pm$  0,05 nm). Em ambiente escuro transferiu-se uma alíquota de 30 $\mu$ L de cada diluição do extrato para tubos de ensaio e adicionou-se 3,0 mL do radical ABTS<sup>•+</sup>. Realizou-se a leitura a 734 nm após 6 minutos da reação e foi utilizado o etanol como branco. A curva padrão foi ajustada com Trolox [(+/-)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic

acid] nas concentrações 0,02; 0,12; 0,25; 0,37 e 0,50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Os resultados da atividade antioxidante do suco foram calculados de acordo com a equação ajustada com o padrão e expressos em equivalente Trolox ( $\mu\text{g ETrolox } 100 \text{ mL}^{-1}$ ).

#### 4.2.4 Compostos fenólicos totais

O método utilizado para determinação dos fenóis totais seguiu metodologia de Singleton, Orthofer e Lamuela (1999). Amostras de 2,2 mL de suco do maracujá foram transferidas para tubos de ensaio, onde foram adicionados 8,0 mL de etanol. Os tubos foram submetidos à agitação por 2 minutos e depois centrifugados a 2000 g durante 10 minutos. Depois, os extratos foram filtrados em filtro de papel qualitativo (15  $\mu\text{m}$ ). Uma alíquota de 0,5 mL da amostra foi transferida para tubo de ensaio e adicionado 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu 10 % (10:90; v/v), e deixado em repouso durante 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL da solução carbonato de sódio 4% (4:96; m/v) e os tubos deixados em repouso por 2 horas, no escuro. A absorbância foi medida em espectrofotômetro BEL Photonics SP1105 a 740 nm. O ácido gálico, nas concentrações que variaram de 5 a 80  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , foi utilizado como padrão. Os resultados foram expressos em equivalente ácido gálico (mg EAG 100  $\text{mL}^{-1}$  suco).

#### 4.2.5 $\beta$ -caroteno

O conteúdo de  $\beta$ -caroteno foi determinado conforme método de Nagata e Yamashita (1992). Uma amostra de 1,0 mL de suco foi adicionada a 10 mL do solvente (6 mL de hexano/4 mL de acetona). Depois, o extrato foi homogeneizado com Ultraturrax durante um minuto e centrifugado a 2000 g durante 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido para leitura. Para calcular os teores presentes na amostra, utilizou-se a seguinte equação:

$$\beta\text{-caroteno} = 0,216A_{663} - 1,22A_{645} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453}$$

Onde:  $A_{663}$ ,  $A_{645}$ ,  $A_{505}$  e  $A_{453}$  são as absorbâncias da leitura da amostra a 663, 645, 505 e 453 nm, respectivamente. Os resultados foram expressos em mg 100  $\text{mL}^{-1}$  de suco.

#### 4.2.6 Ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado por titulação com 2,6-dicloro-fenol-indofenol (DCFI), com modificações propostas por Benassi e Antunes (1988). Os resultados

foram expressos em  $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  de suco.

#### 4.2.7 Índice de degradação patogênica

O índice de degradação patogênica foi determinado de acordo com Cao et al. (2011). As amostras de cada repetição foram avaliadas visualmente e a incidência de patógenos foi estimada por um índice de acordo com uma escala de quatro pontos, onde 0 = sadio ou nenhum fruto atacado, 1 = leve incidência, < 25% da superfície dos frutos atacados, 2 = incidência moderada, cobrindo superfície > 25%, mas inferior a 50% da superfície dos frutos, 3 = incidência severa, cobrindo mais de 50% da superfície dos frutos. O índice de degradação por patógenos foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de degradação patogênica} = (1 \times N_1 + 2 \times N_2 + 3 \times N_3) \times [100 \div (3 \times N)]$$

Onde N é o número total de frutos avaliados (10 frutos) e  $N_1$ ,  $N_2$  e  $N_3$  o número de frutos atacados por nota de incidência (1, 2 ou 3).

#### 4.2.8 Qualidade físico-química

A qualidade físico-química do maracujá-amarelo foi avaliada segundo o teor de sólidos solúveis totais, acidez total titulável, perda de massa fresca, enrugamento e cor da casca do fruto. O teor de sólidos solúveis totais foi determinado por refratômetro analógico de bancada (Digit 2WAJ), com resultados expressos em Brix. A acidez titulável foi determinada por titulação com solução de NaOH a  $1,0 \text{ Mol L}^{-1}$  e fenolftaleína como indicador, com resultados expressos em %, equivalentes ao ácido cítrico (IAL, 2005).

A perda de massa foi determinada através da diferença entre a massa fresca inicial das unidades experimentais e a massa no dia da amostragem, expressa em %. O enrugamento foi determinado subjetivamente, através de exame visual utilizando índice numérico de escalas de notas onde: 1= casca totalmente lisa; 2= mais lisa do que enrugada; 3= porções de casca igualmente lisa e enrugada; 4=mais enrugada do que lisa; 5= totalmente enrugada. A variação da cor da casca foi determinada subjetivamente através de índice de escala numérica variando de 1 (100% da casca verde) até 5 (100% amarela). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.2.9 Atividade enzimática por eletroforese em gel

##### 4.2.9.1 Preparo do gel de poliacrilamida

Em amostras de suco e de casca do maracujá-amarelo, as atividades de Polifenoloxidase (PFO) e peroxidase (POX) foram determinadas por meio de eletroforese de gel de poliacrilamida, conforme metodologia preconizada por Alfenas (2006). Em um bequer foi adicionado 2,15 mL de tampão Tris-HCl 2,25 mol L<sup>-1</sup> (pH 8,8), 3,45 mL de solução de acrilamida, 7,15 mL de água destilada e 10 µL de TEMED. Em seguida, a mistura foi colocada em banho-maria a uma temperatura de ± 30 °C por 30 s, com o objetivo de acelerar o processo de polimerização. À solução aquecida foram adicionados 110 µL de persulfato de amônio, e a solução homogeneizada. Imediatamente após, a solução foi vertida em placas de vidro (10 x 11,3 cm) previamente montadas, colocando em seguida um pente com 14 poços. Após a polimerização, o pente foi retirado, para a deposição das amostras.

##### 4.2.9.2 Eletroforese de isoenzimas para PFO e POX

Após o preparo das amostras e do gel, foi colocada a solução tampão do eletrodo na cuba para o início da corrida. Foram adicionados 10 µL de cada amostra (suco fresco+ extrato da casca+ extrato de suco congelado) em poços separados. A corrida eletroforética (200 V e 30 mA) ocorreu por 5 h e 25 min a 4 °C. Após esse período, o gel foi retirado das placas de vidro e repassado para um recipiente plástico contendo uma solução tampão fosfato de sódio pH 6,8 para lavagem e mantido sob leve agitação.

Após a lavagem do gel, o tampão fosfato foi descartado, a solução reveladora para POX (12,5 mL de guaiacol alcoólico 2%, 306 µL de peróxido de hidrogênio, 87,5 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M, pH 6,8), e para PFO (0,1101 g de catecol dissolvido em 50 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 6,0) foram adicionados e o gel incubado por aproximadamente 50 min a 30 °C ou até o aparecimento das bandas. Com as bandas das enzimas já coradas, a solução corante foi descartada, sendo adicionada uma solução para a descoloração. Posteriormente, o gel foi mantido em uma solução para secagem e acomodado entre lâminas de papel celofane, previamente umedecidas em solução secadora sobre uma placa de vidro plana, evitando-se a formação de bolhas e nivelando o papel sobre o gel com os dedos.

#### 4.2.10 Análise estatística

Foi aplicada a análise de variância e aos parâmetros que apresentaram efeito significativo pelo teste F, suas médias (n=5) foram comparadas pelo teste Fisher-LSD. A análise de correlação linear de Pearson foi aplicada entre as variáveis. O nível de significância a  $p < 0,05$  foi utilizado em todas as análises. O pacote estatístico GENES (CRUZ, 2006) foi utilizado nas análises.

### 4.3 Resultados e Discussão

Este estudo se baseou na avaliação das respostas fisiológicas e bioquímicas do maracujá-amarelo durante o armazenamento refrigerado, avaliando o uso da atmosfera modificada, por embalagem com filme plástico, frente ao uso da atmosfera normal. O padrão respiratório climatérico, típico do maracujá-amarelo, reflete o metabolismo do amadurecimento do fruto, com predominância de reações degradativas especialmente relacionadas a mudanças estruturais e de pigmentação da casca (KADER, 2002; CHITARRA e CHITARRA, 2005). Tal comportamento foi relevante, uma vez que foram utilizados frutos em estágio pré-climatérico, caracterizados pela casca de cor predominantemente verde.

A modificação da atmosfera ocorre pela interação entre o processo natural de respiração do produto e as trocas gasosas através da embalagem. Esta técnica tem sido continuamente utilizada para manter a qualidade de frutos durante o armazenamento, uma vez que há redução da respiração dos frutos, induzida pela redução da concentração de  $O_2$ , bem como a diminuição da produção e sensibilidade ao etileno e das reações de oxidação (FONSECA et al., 2000; KADER, 2002; MOTA et al., 2006), com possíveis implicações sobre as respostas bioquímicas do maracujá. Em atmosfera modificada ocorre também elevação da umidade relativa no interior da embalagem (AMARANTE et al., 2001; MOTA et al., 2003), o que se espera redução da perda de água por transpiração e, conseqüentemente, diminuição do murchamento e do enrugamento da casca do fruto.

#### 4.3.1 Compostos antioxidantes

Compostos fenólicos totais,  $\beta$ -caroteno e ácido ascórbico foram avaliados na composição antioxidante do suco do maracujá-amarelo, e são apresentados na Figura 11. De acordo com a análise de variância, para as três variáveis químicas antioxidantes não houve



interação significativa entre os fatores tempo e atmosfera de armazenamento, mostrando que a mudança na atmosfera de armazenagem não interferiu nos resultados da composição antioxidante estudada durante o armazenamento. Acréscimos significativos de compostos fenólicos totais ocorreram durante o armazenamento (Figura 11a), cujos resultados médios variaram significativamente ( $p < 0,01$ ) de 20,10 a 21,29 mg 100 mL<sup>-1</sup>, entre o início e o final do armazenamento, respectivamente. As pequenas variações verificadas para conteúdo de fenólicos totais pode ser uma resposta do fruto ao armazenamento refrigerado, pois a maioria das reações metabólicas diminui em baixas temperaturas (ARRUDA et al., 2011).

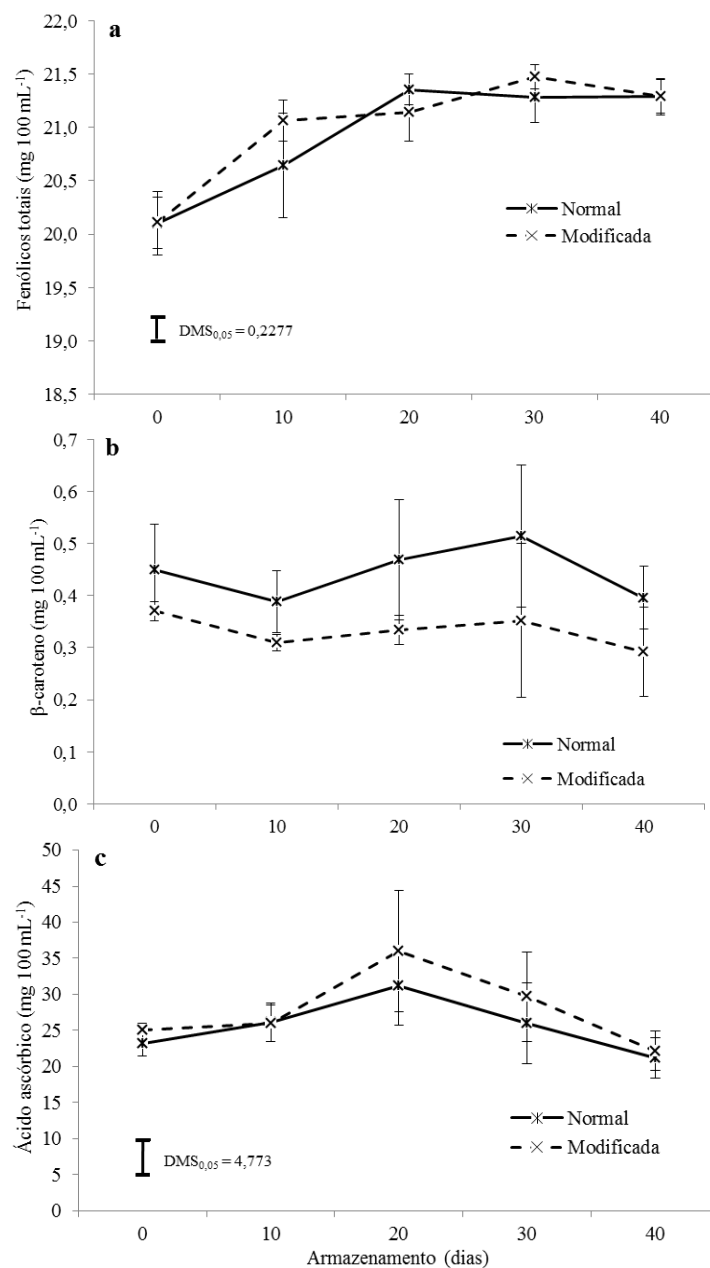


Figura 11 - Composição antioxidante do suco do maracujá-amarelo armazenado a 5 °C e em atmosfera modificada e normal. DMS = diferença mínima significativa. (n = 5).

Compostos fenólicos são substâncias do metabolismo secundário do fruto e sua variação, durante a etapa pós-colheita, muitas vezes está relacionada à fisiologia normal da maturação (TAIZ; ZEIGER, 2006) ou como resposta a estresses ambientais envolvendo temperatura, transpiração, oxigênio e patógenos (ROUSSOS et al., 2007; SOARES et al., 2008). Notadamente, correlações positivas significativas foram encontradas entre compostos fenólicos totais e as variáveis perda de massa, enrugamento e degradação patogênica (Tabela 4), consideradas indicadores de estresses ambientais, bem como também com a cor da casca do fruto, cujo aumento no índice reflete o amadurecimento fisiológico.

Tabela 4 - Coeficientes de correlação linear de Pearson para as combinações entre as variáveis químicas e físicas do maracujá-amarelo durante o armazenamento.

Variáveis	$\beta$ -caroteno	Ácido ascórbico	DPPH	ABTS	Perda de massa	Índice de enrugamento	Índice de degradação	Índice de cor	Acidez titulável	Sólidos solúveis
Fenólicos totais	-0,12 <sup>ns</sup>	0,21 <sup>ns</sup>	-0,66**	-0,70**	0,43**	0,53**	0,44**	0,58**	-0,36**	-0,32*
$\beta$ -caroteno		0,19 <sup>ns</sup>	-0,13 <sup>ns</sup>	0,19 <sup>ns</sup>	0,38**	0,34**	-0,01 <sup>ns</sup>	-0,30*	0,16 <sup>ns</sup>	-0,07 <sup>ns</sup>
Ácido ascórbico			-0,12 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	-0,13 <sup>ns</sup>	-0,11 <sup>ns</sup>	-0,27*	0,03 <sup>ns</sup>	0,25*	-0,01 <sup>ns</sup>
DPPH				0,61**	-0,31*	-0,33**	-0,37**	-0,52**	0,48**	0,24*
ABTS					-0,39**	-0,50**	-0,70**	-0,55**	0,50**	0,27*
Perda de massa						0,94**	0,70**	0,22 <sup>ns</sup>	-0,34**	-0,10 <sup>ns</sup>
Índice de enrugamento							0,72**	0,35**	-0,38**	-0,16 <sup>ns</sup>
Índice de degradação								-0,36**	-0,57**	-0,06 <sup>ns</sup>
Índice de cor									-0,29*	0,01 <sup>ns</sup>
Acidez titulável										0,42**

\*\*  $p < 0,01$ ; \*  $p < 0,05$ ; <sup>ns</sup> não significativo a  $p < 0,05$

Foi verificado efeito não significativo do tempo de armazenagem sobre o conteúdo de  $\beta$ -caroteno (Figura 11b), indicando retenção deste componente na fração do suco do maracujá-amarelo durante armazenamento refrigerado. Os níveis de carotenoides em frutos são relativamente estáveis durante a etapa pós-colheita, sem grandes mudanças até o início da senescência (UENOJO, MARÓSTICA-JUNIOR; PASTORE, 2007). Isto é importante sob o aspecto nutricional, pois o  $\beta$ -caroteno desempenha papel fundamental na saúde humana, pelos seus efeitos benéficos contra certos tipos de câncer, doenças do coração e degeneração da visão (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000). Em contraste, foi relatado que durante o amadurecimento o teor de carotenoides aumenta devido à sua

biossíntese durante o climatério respiratório (BRITTON et al, 1995; RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

As variações significativas ocorridas no conteúdo de ácido ascórbico do suco, em função do tempo de armazenagem (Figura 11c), mostraram acréscimos com nível máximo aos 20 dias de armazenagem (média total de 33,58 mg 100 mL<sup>-1</sup>), seguido de decréscimos significativos com nível mínimo aos 40 dias (média total de 21,67 mg 100 mL<sup>-1</sup>), independente da atmosfera de armazenamento. Segundo Stevens et al. (2008), a manutenção dos níveis de ácido ascórbico em órgãos vegetais é rigidamente controlada por reações de síntese, degradação, reciclagem e transporte dentro da célula. Neste caso, os resultados indicam, mesmo em condições de baixa temperatura, que ocorreram níveis mais elevados de síntese e reciclagem do ácido ascórbico até 20 dias de armazenagem, com subsequente prevalência de reações de degradação, muito provavelmente devido aos estresses fisiológicos relacionados à perda de massa fresca e degradação por patógenos ao final do armazenamento.

Os aumentos nos níveis de ácido ascórbico até 20 dias de armazenagem pode ter uma estreita relação com o amadurecimento do maracujá, que se mostrou significativamente variável, o que de fato ficou demonstrado através dos aumentos da cor amarela da casca durante o armazenamento, conforme pode ser constatado na Figura 14c.

#### 4.3.2 Atividade antioxidante

As variações da atividade antioxidante do suco do maracujá-amarelo durante o seu armazenamento a 5 °C, em atmosfera normal e modificada, são mostradas nas Figuras 12a e 12b, respectivamente para os métodos DPPH e TEAC. Em ambos os métodos citados, constata-se a evidente tendência de diminuição da atividade antioxidante do suco do maracujá, independente da atmosfera de armazenamento. A atividade antioxidante DPPH do suco do maracujá-amarelo não apresentou diferenças significativas, entre as atmosferas normal e modificada, até 30 dias de armazenamento dos frutos, mas aos 40 dias frutos armazenados em atmosfera normal apresentaram atividade antioxidante DPPH ( $28,5 \pm 1,11$  mg EAA 100 mL<sup>-1</sup>) significativamente superior, comparado ao armazenamento em atmosfera modificada ( $22,29 \pm 0,89$  mg EAA 100 mL<sup>-1</sup>). Para a atividade antioxidante TEAC, frutos armazenados em atmosfera normal também apresentaram valores aos 20 e 30 dias de armazenamento ( $68,5 \pm 2,33$  e  $64,38 \pm 3,12$  mg ETrolox 100 mL<sup>-1</sup>, respectivamente) significativamente superiores, comparado aos frutos armazenados em atmosfera modificada

( $61,47 \pm 1,96$  e  $58,16 \pm 1,7$  mg ETrolox  $100 \text{ mL}^{-1}$ , respectivamente nos mesmos períodos), mas resultaram em diferenças não significativas ao final do armazenamento (Figura 12b).

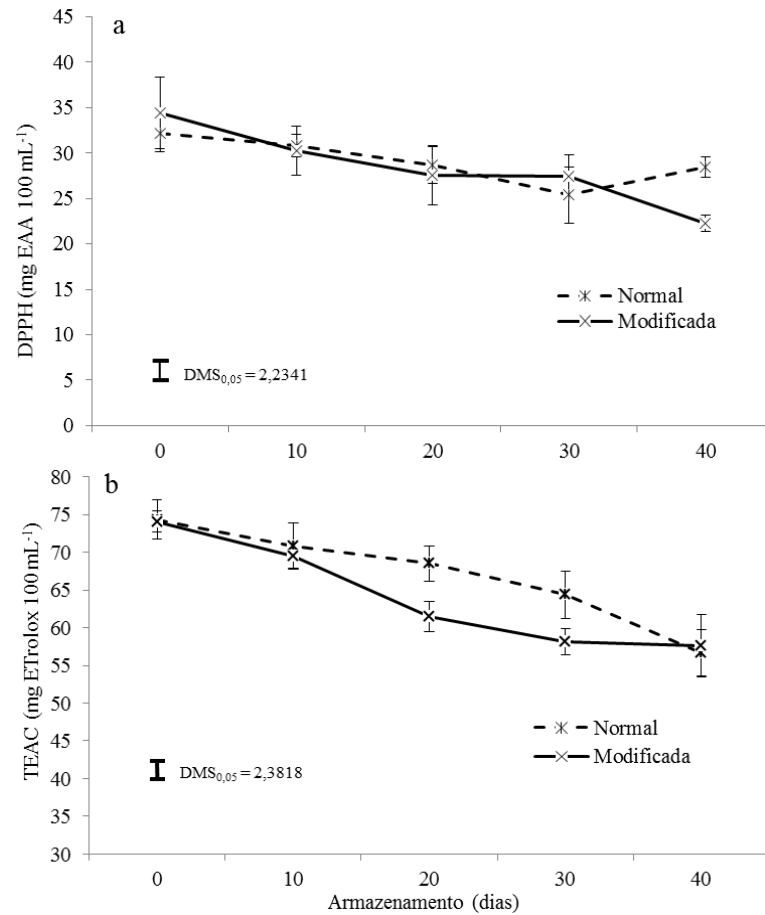


Figura 12 - Atividade antioxidante DPPH (a) e TEAC (b) do suco do maracujá-amarelo armazenado a 5 °C e em atmosfera modificada e normal. DMS = diferença mínima significativa. (n = 5).

Segundo relatos, o uso da atmosfera modificada durante o armazenamento de frutos reflete em redução de estresses fisiológicos causados por metabolismo normal, ação de patógenos e processos de transpiração (JERONIMO et al., 2007; LIMA et al., 2005; CHITARRA e CHITARRA, 2005; GUEVARA, 2003; LANA e FINGER, 2000), havendo diminuição dos eventos fisiológicos envolvendo reações de oxidação (KADER, 2002). Entretanto, nas condições de refrigeração o uso da atmosfera modificada, conforme resultados da Figura 11, não foi capaz de reduzir a perda de atividade antioxidante do suco.

Correlações significativas entre as atividades antioxidantes DPPH e TEAC e compostos antioxidantes foram verificadas apenas para compostos fenólicos totais (-0,66 e -0,70, respectivamente), conforme os resultados de correlação linear de *Pearson* (Tabela 4). O sinal negativo indica tendências opostas de variação durante o armazenamento, mostrando

que a diminuição na atividade antioxidante foi acompanhada por acréscimos nos níveis de compostos fenólicos totais do suco. Tal resultado contrasta com outros relatos que mostraram correlações positivas entre essas variáveis para nêspersas (Gruz et al., 2011) e mamão papaia (Kobayashi et al., 2008) armazenados.

#### 4.3.3 Qualidade microbiológica

A qualidade microbiológica dos frutos foi avaliada com base no índice de degradação patogênica, determinado durante o armazenamento e representado numa escala percentual, conforme mostrado na Figura 13. Os dados observados refletem o nível de degradação por patógenos de acordo com a severidade de ataque superficial em cada fruto e com o número de frutos atacados. O fungo *Penicillium* ssp. foi identificado nos frutos por análise microscópica e, provavelmente, foi responsável pelos sintomas de degradação.

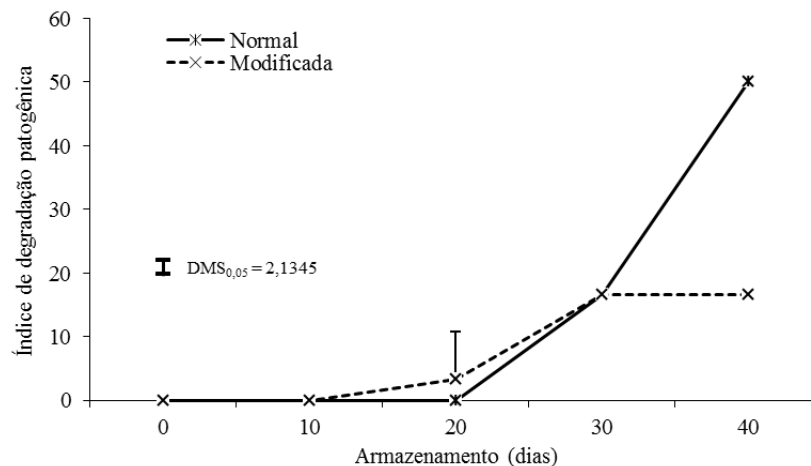


Figura 13 - Índice de degradação por patógeno do fruto do maracujá-amarelo durante armazenamento a 5 °C e em atmosfera modificada e normal. DMS = diferença mínima significativa. (n = 5).

Em ambas as atmosferas de armazenagem, aumentos significativos no índice de degradação patogênica foram verificados apenas aos 30 dias de armazenagem, com 16,67 % de sintomas superficiais nos frutos, mostrando que neste período e sob refrigeração, a atmosfera modificada não foi eficiente em inibir o desenvolvimento de sintomas de patógenos. No entanto, efeito inibidor da ação de patógenos foi verificado somente aos 40 dias de armazenagem, quando acréscimos no índice de degradação patogênica foram verificados apenas nos frutos armazenados em atmosfera normal, atingindo 50 % de sintomas superficiais, enquanto em atmosfera modificada este índice se manteve em 16,67 %.

Como resultado da atmosfera modificada, alterações do ambiente gasoso, devido à respiração do maracujá e permeabilidade específica do filme plástico de PVC para gases, suprimiram parcialmente o desenvolvimento de patógenos, o que de fato contribui para retardar a senescência dos frutos e pode manter atributos de qualidade importantes. A atmosfera modificada exerce apenas um efeito limitado sobre a proteção contra patógenos, provavelmente porque os níveis de gases respiratórios atingido no interior da embalagem, devido a relativa permeabilidade do filme plástico utilizado, não são adequados para a ótima inibição de agentes patogênicos ou da respiração dos frutos. A capacidade da atmosfera modificada em reduzir a degradação pós-colheita de frutas por patógenos, tem sido amplamente reportado por diferentes autores (BASTIAANSE et al., 2010; TANO et al., 2007; SIVAKUMAR e KORSTEN, 2006; KARABULUT e BAYKAL, 2004).

Os resultados até 30 dias de armazenamento sugerem que o efeito supressor do desenvolvimento de patógenos esteja mais relacionado à baixa temperatura, e não à atmosfera modificada. No entanto, é importante considerar que o uso da atmosfera modificada é um método auxiliar de conservação pós-colheita muito viável para frutos, conforme salientaram Jiang et al. (2001) e Kader (2002), mas para o maracujá-amarelo armazenado em baixas temperaturas as vantagens da atmosfera modificada são mais evidentes na manutenção da qualidade física relacionada à redução da perda de massa fresca e do enrugamento (REOLON, 2009).

#### 4.3.4 Características físicas

Conforme Figura 4a, a perda de massa fresca nos frutos foi crescente em ambas as condições atmosféricas de armazenagem, mas os aumentos foram significativamente maiores em frutos armazenados em atmosfera normal, atingindo  $43,93 \pm 3,52$  % aos 40 dias de armazenamento, enquanto em atmosfera modificada, neste período, a perda de massa foi de  $10,43 \pm 1,75$  %. Da mesma forma, os maracujás apresentaram enrugamento durante o armazenamento (Figura 14b), porém, no armazenamento em atmosfera normal, os frutos atingiram índice máximo de enrugamento (5- superfície da casca totalmente enrugada) aos 30 dias, enquanto em atmosfera modificada, o nível de enrugamento atingido neste período foi equivalente a 3 (porções de casca igualmente lisa e enrugada) e mantendo-se neste nível até 40 dias. Esses resultados refletem a elevada suscetibilidade do maracujá-amarelo à perda de massa fresca e ao enrugamento, pois, mesmo sob refrigeração, os frutos iniciaram um rápido

processo de desidratação. Resultados semelhantes também foram verificados pelos autores (MOTA et al., 2003; MOTA et al., 2006; HAFLE et al., 2010).

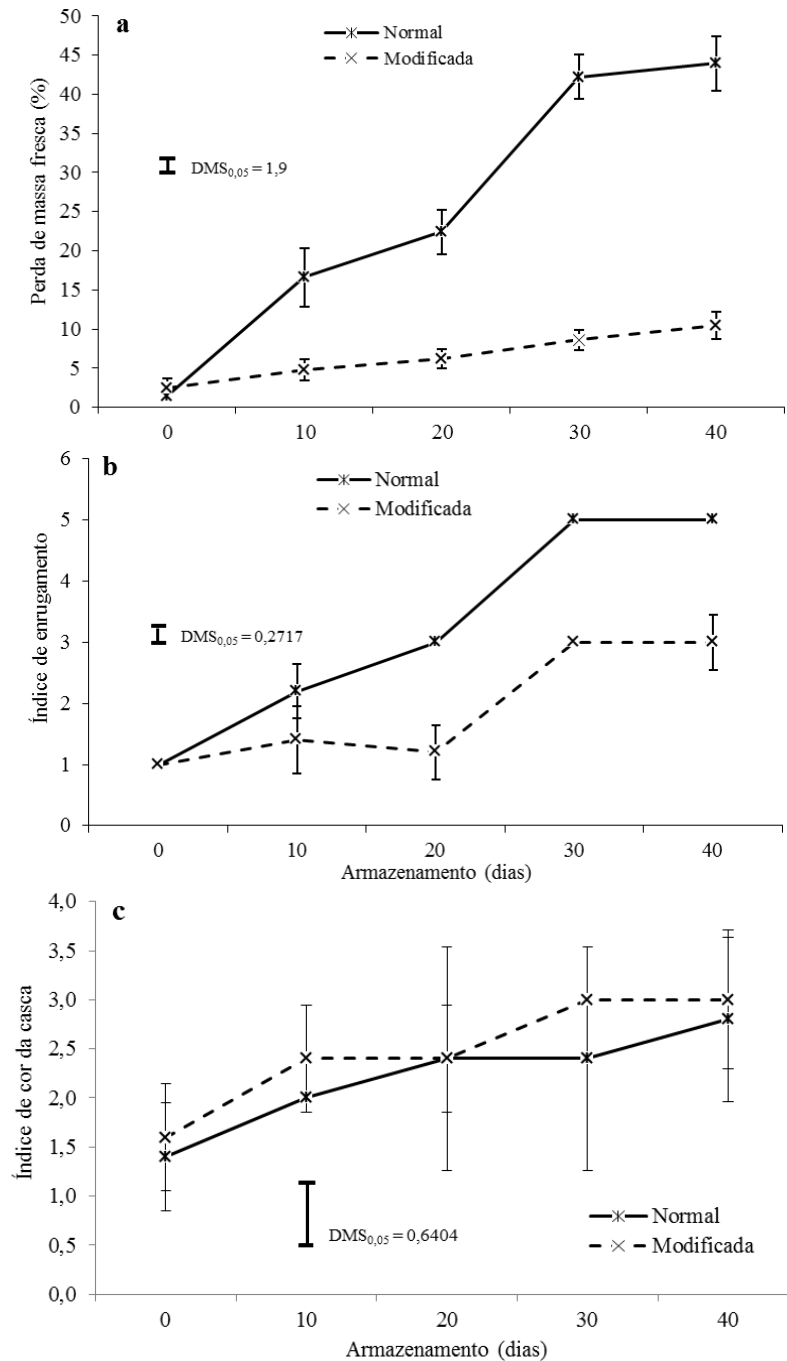


Figura 14 - Perda de massa fresca (a), enrugamento (b) e cor (c) do maracujá-amarelo armazenado a 5 °C e em atmosferas modificada e normal. DMS = diferença mínima significativa. (n = 5).

A perda de massa fresca do maracujá-amarelo tem sido minimizada com armazenamento dos frutos em temperaturas baixas (SANTOS et al., 2008). Entretanto, A utilização da baixa temperatura associada a embalagem com atmosfera modificada, permiti

reduzir as perdas em níveis ainda maiores (RESENDE et al., 2001). O controle do enrugamento é de fundamental importância, visto que o maracujá é, geralmente, comercializado por quilo e pelo fato do consumidor comprar os frutos pela aparência. A desidratação do fruto, que leva ao enrugamento, ocorre pelo processo de transpiração, o qual é influenciado por vários fatores, tais como: espessura da casca, temperatura, umidade relativa do ambiente de armazenamento e presença de barreiras artificiais como filmes plásticos (CHITARRA e CHITARRA, 2005). A maior retenção de massa fresca e menor índice de enrugamento dos frutos, apresentados em atmosfera modificada, justificam o seu desta técnica na comercialização do maracujá-amarelo.

A cor da casca dos frutos foi mensurada em índices que variaram de acordo com uma escala numérica de cor que variou de 1 (100% da casca verde) até 5 (100% amarela) e é apresentada na Figura 14c. A análise de variância revelou que não houve interação significativa entre os fatores, indicando que a atmosfera de armazenagem não influenciou nos resultados de cor da casca ao longo do armazenamento. Adicionalmente, não houve diferenças significativas da cor da casca dos frutos entre as duas atmosferas de armazenagem. É provável que a baixa temperatura de armazenagem (5 °C) tenha influenciado esses resultados, pois nesta condição a maioria dos processos metabólicos são bem reduzidos (CHITARRA e CHITARRA, 2005). No entanto, houve aumentos significativos no índice de cor da casca dos frutos (Figura 14c), mostrando que embora sejam reduzidas as taxas respiratórias dos frutos em baixa temperatura, elas ocorrem ao longo do tempo e resultam em mudanças indicadoras de amadurecimento, como o aumento da cor amarela na casca dos maracujás.

Dentre as diversas reações metabólicas da maturação, a degradação de clorofila e a síntese de outros pigmentos, como os carotenoides de cor amarela do maracujá (SILVA et al., 2008), refletem o aumento da cor amarela da casca e são marcantes nesta etapa do desenvolvimento do fruto. Juntamente com a presença de enrugamento, a coloração da casca caracterizam atributos importantes de comercialização do maracujá-amarelo, por meio dos quais o consumidor avalia a maturidade e a qualidade no momento da compra.

#### 4.3.5 Acidez titulável e sólidos solúveis

De acordo com a análise de variância, não houve interação significativa entre os fatores analisados para as variáveis sólidos solúveis totais e acidez total titulável. Também não houve efeito significativo da atmosfera de armazenagem sobre essas variáveis (Figura



15), indicando que na condição de refrigeração não há influência da atmosfera modificada nos teores de sólidos solúveis totais e na acidez titulável do suco. Em ambas as variáveis químicas, houve tendência de diminuição nos níveis durante o armazenamento.

Houve correlação significativa e negativa da acidez titulável com a perda de massa fresca (Tabela 4), sugerindo, mesmo com o baixo nível de correlação (-0,34), a possibilidade da variação ter sido reflexo da provável perda de matéria fresca do suco, já que este, segundo Mota et al. (2006) também contribui com a perda global de matéria fresca do fruto durante o armazenamento. Por outro lado, a acidez total titulável reflete o conteúdo de ácidos orgânicos presentes no suco, com predominância do ácido cítrico, e seus níveis tendem a diminuir com a maturação dos frutos e, por serem importantes fontes de energia respiratória, são convertidos ou oxidados a açúcares e utilizados por vias metabólicas (MOTA et al., 2006). Não houve correlação significativa entre sólidos solúveis e perda de massa fresca do fruto (Tabela 4), indicando que a sua diminuição também pode ter ocorrido por reações oxidativas durante o metabolismo da maturação (KADER, 2002).

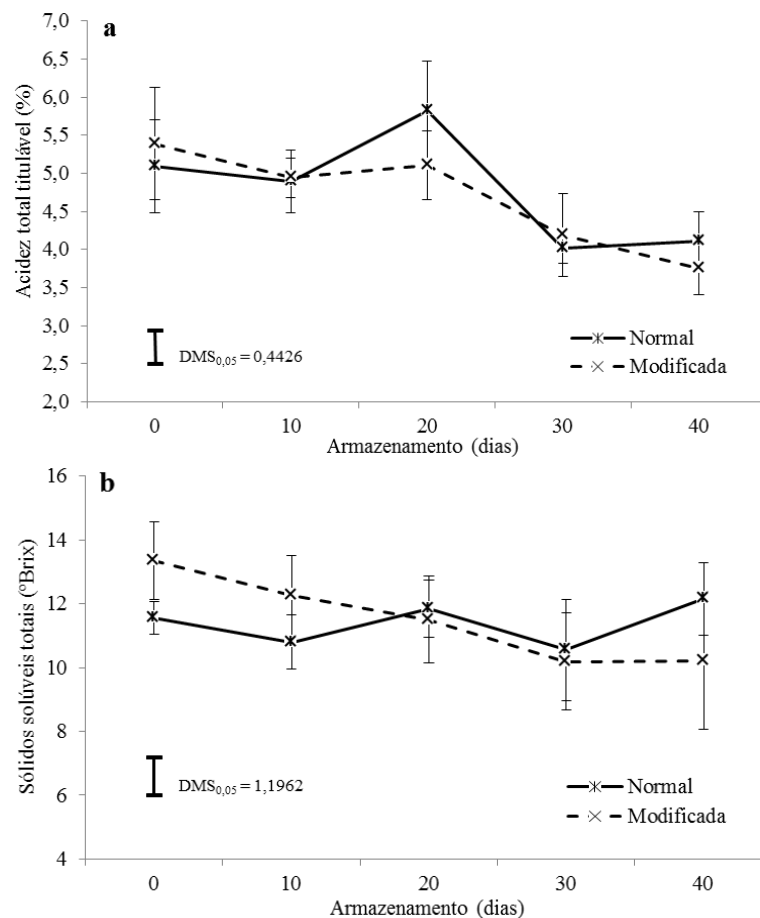


Figura 15 - Acidez total titulável (a) e sólidos solúveis totais (b) do suco do maracujá-amarelo armazenado a 5 °C e em atmosferas modificada e normal. DMS = diferença mínima significativa. (n = 5).

#### 4.3.6 Atividade enzimática

##### 4.3.6.1 Atividade de polifenoloxidase (PFO) e peroxidase (POX)

A atividade enzimática do suco foi inicialmente avaliada para as enzimas PFO e POX, com base em metodologias espectrofotométricas. No entanto, os resultados mostraram atividade nula na fração do suco para essas duas enzimas, em todas as amostras analisadas. A ação catalítica das enzimas geralmente é alcançada dentro de uma estreita faixa de pH e cada reação tem um valor ótimo, geralmente situado entre 4,5 e 8,0, no qual sua atividade é máxima (LAMBRECHT,1995). O que não aconteceu neste trabalho, uma vez que o pH utilizado na solução tampão fosfato de sódio foi 6,8.

O escurecimento oxidativo de frutos devido a estresses fisiológicos é atribuído principalmente à oxidação de compostos fenólicos mediada por PFO, convertendo-os a quinonas que se polimerizam para formação de melaninas (pigmentos escuros). A oxidação de fenóis resulta também na atividade de peroxidase, que está relacionada, por exemplo, ao desenvolvimento de aromas estranhos durante o armazenamento (LIMA e DURIGAN, 2002; CHITARRA e CHITARRA, 2005). Segundo Botrel et al. (2002), a PFO é encontrada praticamente em todos os tecidos vegetais e sua atividade pode variar em função da espécie, variedade, estágio de maturação, condições de cultivo e mesmo com as práticas de manuseio e armazenamento adotados. No entanto, há indícios de não haver atividade desta enzima no suco do maracujá-amarelo, com base na análise realizada, devendo ser melhor esclarecido em novos estudos.

As variações na atividade de PFO em amostras vegetais podem ser justificadas pelo tipo de solução extratora, faixa de pH, aditivo adicionado e concentração do substrato usado, visto que a interação destes fatores podem produzir resultados diferentes em tecidos vegetais diferentes (LIMA et al., 2001).

Posteriormente, amostras de suco e casca do maracujá-amarelo foram submetidas à análise da atividade de PFO por meio de eletroforese de gel de poliacrilamida, para um teste comparativo da presença de PFO.

##### 4.3.6.2 Eletroforese em gel de poliacrilamida para PFO e POX

As atividades de PFO e POX foram detectadas na casca do maracujá-amarelo, pela existência de isoenzimas específicas reveladas por meio de eletroforese de gel de

poliacrilamida, mas não foram identificadas no suco do fruto. Embora tenha ocorrido mobilidade para as duas enzimas, foi possível visualização das bandas de corrida do gel apenas para a isoenzima de polifenoloxidase, conforme apresentado na Figura 16. As bandas com mobilidade representam a existência de atividade da enzima na amostra.

A enzima PFO tem recebido atenção contínua de pesquisadores, por estar envolvida com o escurecimento enzimático de frutas e hortaliças. Diferentes denominações têm sido associadas a esta enzima, como tirosinase, creolase, catecolase, difenolase e fenolase, fato que reflete a habilidade desta enzima em utilizar diferentes compostos fenólicos como substrato (ARAÚJO, 2004). Entretanto, até o presente momento não foram encontrados relatos científicos sobre a atividade de PFO no suco ou na casca do maracujá-amarelo. Outros estudos para o esclarecimento de possíveis reações de escurecimento enzimático no suco ou casca do maracujá-amarelo devem ser realizados.

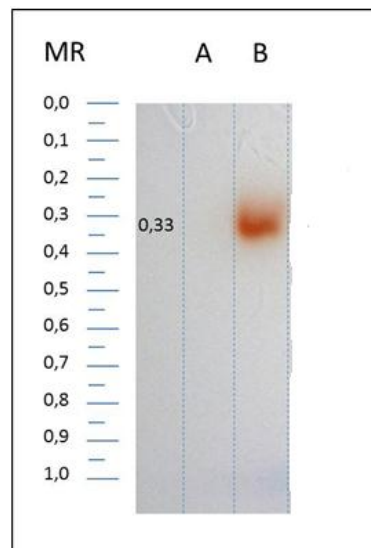


Figura 16 - Mobilidade relativa de polifenoloxidase do suco (A) e da casca (B) do maracujá-amarelo em eletroforese de gel de poliacrilamida.

#### 4.4 Conclusões

O uso da atmosfera modificada não foi capaz de reduzir as perdas de atividade antioxidante do suco do maracujá-amarelo, durante o seu armazenamento. Compostos fenólicos totais e ácido ascórbico também não foram influenciados pelo uso da atmosfera modificada.

Até 30 dias de armazenamento houve efeito supressor da atividade de patógenos similarmente nas duas atmosferas de armazenagem, sugerindo que este efeito esteve mais

relacionado à baixa temperatura. Aos 40 dias de armazenamento a atmosfera modificada foi mais eficiente em inibir a atividade de patógenos.

A atmosfera modificada foi eficaz na redução da perda de massa fresca e do enrugamento da casca, ficando evidente a alta sensibilidade dos frutos às alterações envolvendo a perda de água e a importância do uso da atmosfera modificada na manutenção da sua qualidade física. Sólidos solúveis totais e acidez total titulável diminuíram durante o armazenamento e a atmosfera modificada não influenciou estes resultados.

O uso da atmosfera modificada durante o armazenamento a 5 °C proporcionou condições ótimas para comercialização do maracujá-amarelo até 20 dias. Este estudo revelou a existência de atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase na casca do maracujá-amarelo, mas não foram identificadas no suco do fruto.

#### 4.5 Referências

- ALFENAS, A.C. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microorganismo**. 2 ed. Viçosa: Editora UFV, 627p. 2006.
- AMARANTE, C.; BANKS, N.H.; GANESH, S. Relationship between character of skin cover of coated pears and permeance to water vapour and gases. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.21, n.3, p.291-301, 2001.
- ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3 ed. Viçosa: Editora UFV. 478p. 2004.
- ARRUDA, M.C.; JACOMINO, A.P. TREVISAN, M.J.; JERONIMO, E.M.; MORETTI, C.L. Atmosfera modificada em laranja 'Pêra' minimamente processada. **Bragantia**, Campinas, v.70, n.3, p.664-671, 2011.
- BASTIAANSE, H.; BELLAIRE, L.L.; LASSOIS, L.; MISSON, C.; JIJAKLI, M.H. Integrated control of crown rot of banana with *Candida oleophila* strain O, calcium chloride and modified atmosphere packaging. **Biological Control**, Amsterdam, v.53, n.1, p.100-107, 2010.
- BENASSI, M.T.; ANTUNES, A.J. A comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.34, p.507-513, 1988.
- BOTREL, N.; CARVALHO, V.D.; OLIVEIRA, E.F.; SOARES, A.G.; CENCI, S.A. Efeito da "mancha-chocolate" nas características físico-químicas e químicas de frutos de abacaxizeiro-'Pérola'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.77-81, 2002.

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, R.H. **Carotenoids: Isolation Analysis**. v.1A, Basel: Birkhauser, 187p., 1995.

CAO, S.; HU, Z.; ZHENG, Y.; YANG, Z.; LU, B. Effect of BTH on antioxidant enzymes, radical-scavenging activity and decay in strawberry fruit, **Food Chemistry**, Barking, v.125, p.145-149, 2011.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESALQ/FAEPE, 785p., 2005.

CRUZ, C.D. **Programa genes: biometria**. Viçosa: Editora UFV, 382 p., 2006.

DE ANCOS, B.; SGROPPO, S.; PLAZA, L.; CANO, M.P. Possible nutritional and health-related value promotion in orange juice preserved by high-pressure treatment. **Journal of the Science of Food Agriculture**, Oxford, v.82, n.8, p.790-796, 2002.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A.R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains- characteristics, biosynthesis, processing, and storage. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.40, n.3, p.173-289, 2000.

DURIGAN, J.F.; SIGRIST, J.M.M.; ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.; VIEIRA G. Qualidade e tecnologia pós-colheita do maracujá. In: LIMA, A.de A. CUNHA, M.A.P. (Org.). **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p.283-303, 2004.

FISCHER, I.H.; ARRUDA, M.C.; ALMEIDA, A.M.; GARCIA, M.J.M.; JERONIMO, E.M.; PINOTTI, R.N.; BERTANI, R.M.A. Doenças e características físicas e químicas pós-colheita em maracujá-amarelo de cultivo convencional e orgânico no Centro Oeste paulista. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.29, n.2, p.254-259, 2007.

FONSECA, S.C.; OLIVEIRA, F.A.R.; LINO, I.B.M.; BRECHT, J.; CHAU, K.V. Modelling O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> exchange for development of perforation-mediated modified atmosphere packaging. **Journal of Food Engineering**, Kidlington, v.43, n.1, p.9-15, 2000.

GRUZ, J.; AYAZ, F.A.; TORUN, H.; STRNAD, M. Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit at different stages of ripening. **Food Chemistry**, Barking, v.124, n.1, p.271-277, 2011.

GUEVARA, J. C. Effects of Elevated Concentrations of CO<sub>2</sub> in Modified Atmosphere Packaging on the Quality of Prickly Pear Cactus Stems (*Opuntia* spp.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.29, n.2, p.167-176, 2003.

HAFLE, O.M.; COSTA, A.C.; SANTOS, V.M.; SANTOS, V.A.; MOREIRA, R.A. Características físicas e químicas do maracujá-amarelo tratado com cera e armazenado em condição ambiente. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Fortaleza, v.5, n.3, p.341-346, 2010.

HASSIMOTTO, N.M.A.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.8, p.2928- 2935, 2005.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1018p., 2005.

JERONIMO, E.M.; BRUNINI, M.A.; ARRUDA, M.C.; CRUZ, J.C.S.; GAVA, G.J. de C.; SILVA, M.A. Qualidade de mangas ‘tommy atkins’ armazenadas sob atmosfera modificada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.4, p.1122-1130, 2007.

JIANG, Y.; JOYCE, D.C.; TERRY, L. A. 1-Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.23, n.3, p.227-232, 2001.

KADER, A.A. **Postharvest Technology of Horticultural Crops**. Ed.3, Oakland: University of California, 519p. 2002.

KARABULUT, O.A.; BAYKAL, N. Integrated control of postharvest diseases of peaches with a yeast antagonist, hot water and modified atmosphere packaging. **Crop Protection**, Guildford, v.23, n.5, p.431-435, 2004.

KOBAYASHI, H.; WANG, C.; POMPER, K.W. Phenolic content and antioxidant capacity of pawpaw fruit (*Asimina triloba* L.) at different ripening stages. **HortScience**, Alexandria, v.43, n.1, p.268-270, 2008.

LANA, M.M.; FINGER, F.L. **Atmosfera modificada e controlada**: aplicação na conservação de produtos hortícolas. Brasília: Embrapa Comunicação e Transferência de Tecnologia, 34p. 2000.

LAMBRECHT, H. S. Sulfite substitutes for the prevention of enzymatic browning in foods. **Fruit Processing**, v.2, p.9-13, 1995.

LIMA, E.D.P.A.; PASTORE, G.M.; LIMA, C.A.A. Extração e atividade da enzima polifenoloxidase em diferentes partes da pinha (*Annona squamosa* L.) nos estádios de maturação verde e maduro. **Agropecuária Técnica**, Areia, v.22, n.1/2, p.33-43, 2001.

LIMA, A.A. **Maracujá produção**: aspectos técnicos. Frutas do Brasil n.15, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 103p., 2002.

LIMA, M.A.; DURIGAN, J.F. Reguladores vegetais na conservação pós-colheita de goiabas ‘Paluma’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.370-375, 2002.

LIMA, M.A.C.; ALVES, R.E.; BISCEGLI, C.I.; FILGUEIRAS, H.A.C. Qualidade pós-colheita de melão Galia submetido à modificação da atmosfera e 1-metilciclopropeno. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.793-798, 2005.

MDLULI, K.M. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase and peroxidase from marula fruit (*Sclerocarya birrea* subsp. Caffra). **Food Chemistry**, Barking, v.92, n.2, p.311-323, 2005.

MOTA, W.F.; SALOMÃO, L.C.C.; CECON, P.R.; FINGER, F.L. Waxes and plastic film in relation to the shelf life of yellow passion fruit. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.1, p.51-57, 2003.

MOTA, W.F.; SALOMÃO, L.C.C.; NERES, C.R.L.; MIZOBUTSI, G.P.; NEVES, L.L.M. Uso de cera-de-carnaúba e saco plástico poliolefínico na conservação pós-colheita do maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.2, p.190-193, 2006.

NAGATA, M., YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Japanese Society for Food Science and Technology**, Tokio, v.39, n.10, p.925-928, 1992.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M. E.; SERRANO, J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, Essex, v.41, n.3, p.274-285, 2008.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v.63, n.7, p.1035-1042, 2000.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA A.; YANG, M.; RICE – EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.26, n.9/10, p.1231-1237, 1999.

REOLON, C.A.; BRAGA, G.C.; SALIBE, A.B. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo em diferentes estádios de maturação. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v.27, n.2, p.305-312, 2009.

RESENDE, J.M.; VILAS BOAS, E.V. de B.; CHITARRA, M.I.F. Uso de atmosfera modificada na conservação pós-colheita do maracujá amarelo. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.1, p.159-168, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored foods**. Arlington: John Snow Inc., 88p., 1997.

ROUSSOS, P.A.; MATSOUKIS, A.; PONTIKIS, C.A.; CHRONOPOULOU-SERELI, A. Relations of environmental factors with the phenol content and oxidative enzyme activities of olive explants. **Scientia Horticulturae**. Scottsville Pietermaritzburg, v.113, n.1, p.100-102, 2007.

RUFINO, M.S.M.; FERNANDES, F.A.N.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, Barking, v.114, n.2, p.693-695, 2009.

SANTOS, C.E.M., LINHALES, H.; PISSIONI, L.L.M.; CARRARO, D.C.S., SILVA, J.O.C., BRUCKNER, C.H. Perda de massa fresca dos frutos em progênies de maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p.219-222, 2008.

SILVA, T.V.; RESENDE, E.D.; VIANA, A.P.; PEREIRA, S.M.F.; CARLOS, L.A.; VITORAZI, L. Determinação da escala de coloração da casca e do rendimento em suco do maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.4, p.880-884, 2008.

SINGH, S.P.; SINGH, Z. Postharvest oxidative behaviour of 1-methylcyclopropene treated Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell) during storage under controlled and modified atmospheres. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.74, n.5, p.26-35, 2012.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Orlando, v.299, n.1, p.152-178, 1999.

SIVAKUMAR, D.; KORSTEN, L. Influence of modified atmosphere packaging and postharvest treatments on quality retention of litchi cv. Mauritius. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.41, n.2, p.135-142, 2006.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E.M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.30, n.1, p.059-064, 2008.

SOUZA, S.L.; MOREIRA, A.P.B.; SANTANA, H.M.P.; ALENCAR E.R. Conteúdo de carotenos e provitamina A em frutas comercializadas em Viçosa, Estados de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.26, n.4, p.453-459, 2004.

STEVENS, R.; PAGE, D.; GOUBLE, B.; GARCHERY, C.; ZAMIR, D.; CAUSSE, M. Tomato fruit ascorbic acid content is linked with monodehydroascorbate reductase activity and tolerance to chilling stress. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.31, n.8, p.1086-1096, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 4 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 705p., 2006.

TALCOTT, S.T.; PERCIVAL, S.S.; PITTET-MOORE, J.; CELORIA, C. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.51, n.4, p.935-941, 2003.

TANO, K.; MATHIAS, K.O.; GILLES, D.; ROBERT, W.L.; JOSEPH, A. Comparative evaluation of the effect of storage temperature fluctuation on modified atmosphere packages of selected fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.46, n.3, p.212-221, 2007.

UENOJO, M.; MARÓSTICA-JUNIOR, M.R.; PASTORE, G.M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma, **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.3, p.616-622, 2007.

VALDERRAMA, P.; MARANGONI, F.; CLEMENTE, E. Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em maçã (*Mallus comunis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.3, p.321-325, 2001.



VEBERIC, R.; COLARIC, M.; STAMPAR, F. Phenolic acids and flavonoids of fig fruit (*Ficus carica* L.) in the northern Mediterranean region. **Food Chemistry**, Barking, v.106, n.1, p.153-157, 2008.

VIEITES, R.L.; EVANGELISTA, R.M.; SILVA, C.S.; MARTINS, M.L. Conservação do morango armazenado em atmosfera modificada. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.27, n.2, p.243-252, 2006.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR., Brasil)

R848r	<p>Rotili, Maria Cristina Copello Respostas bioquímicas, físico-químicas e microbiológicas do maracujá-amarelo durante armazenamento em atmosfera modificada e em diferentes temperaturas / Maria Cristina Copello Rotili. - Marechal Cândido Rondon, 2012. 90 p.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Gilberto Costa Braga</p> <p>Dissertação (Mestrado em agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2012.</p> <p>1. Maracujá amarelo - Pós-colheita. 2. Maracujá amarelo - Conservação. 3. Maracujá amarelo - compostos antioxidantes. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título.</p> <p>CDD 22.ed. 634.425 CIP-NBR 12899</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborado por Marcia Elisa Sbaraini-Leitzke CRB-9/539