

Procedimento eficiente na inibição do escurecimento de guariroba (*Syagrus oleracea*, Becc) durante processamento e armazenamento

Cristine Elizabeth Alvarenga Carneiro^{1*}, Henriqueta Vieira Merçon Rolim¹ e Kátia Flávia Fernandes²

¹Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás, Brasil. ²Departamento de Ciências Fisiológicas, Laboratório de Química de Proteínas, Universidade Federal de Goiás, C. P. 131, 74001-970, Goiânia, Goiás, Brasil. *Autor para correspondência.

RESUMO. Neste trabalho, a guariroba (*Syagrus oleracea*, Becc) foi submetida a um procedimento de branqueamento que possibilitou a inativação das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO). O tratamento consistiu em imergir as fatias de guariroba a uma solução de espera contendo solução de ácido láctico 1,0% (p/v), durante 10 minutos, seguido de cozimento em solução de NaCl 2,5% (p/v), por 15 minutos. Esse tratamento foi efetivo na inativação das enzimas, o que pode ser medido pela atividade enzimática e por testes de coloração e de luminosidade. O tratamento permitiu que as guarirobas fossem armazenadas em sacos de polietileno, a 8°C, por 60 dias. Também foram investigados os efeitos do tempo de pós-colheita sobre a vida útil das guarirobas, cujos resultados permitem-nos recomendar o processamento dessa planta no prazo máximo de três dias após a colheita.

Palavras-chave: peroxidase, polifenoloxidase, guariroba, escurecimento, processamento.

ABSTRACT. Effective procedure for darkness inhibition of guariroba (*Syagrus oleracea*, Becc) during its processing and storage. In this study the guariroba (*Syagrus oleracea*, Becc) was submitted to a blanching procedure that was able to inactivate the peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) enzymes. The treatment consisted of immersing guariroba slices in a pre-processing solution containing a solution of 1.0% (p/v) of lactic acid during 10 minutes, followed by heating in solution of NaCl 2.5% (p/v) for 15 minutes. This treatment was effective for enzymes inactivation, measured by enzyme activity tests and color development and luminosity tests, allowing the storage of guariroba in polyethylene sacks, at 8°C, for 60 days. We also investigated the influence of post harvest time on economic viability of this plant, which allowed us to suggest this plant processing at a maximum time limit of three days after harvest.

Key words: peroxidase, poliphenoloxidase, guariroba, darkness inhibition, processing.

Introdução

Muitos vegetais sofrem grandes perdas na colheita e na pós-colheita devido à falta de mão-de-obra especializada e de conhecimento tecnológico adequados ao manejo, prejudicando a comercialização e a industrialização do produto. Um exemplo é a guariroba (*Syagrus oleracea*, Becc), palmeira típica da região de cerrado, muito consumida no Estado de Goiás e no norte de Minas Gerais, por apresentar sabor amargo característico. Sua exploração comercial vem se intensificando nos últimos anos, com o aparecimento das plantações comerciais para o consumo “*in natura*” e industrializado. No entanto, as perdas na pós-colheita são consideráveis e acabam por serem embutidas no custo, dificultando a introdução do produto no mercado.

Um dos principais fatores na desvalorização do produto é o rápido escurecimento da parte comestível, causado por reações enzimáticas em que estão envolvidas duas principais enzimas: peroxidases (POD) e polifenoloxidases (PPO) (Flurkey e Ien, 1978; Vignyázo-Vámos, 1981; Goy *et al.*, 1992; Arslan *et al.*, 1997). Essas enzimas atuam em combinação com os compostos fenólicos, substâncias responsáveis pelo sabor amargo característico da guariroba. Elas oxidam os compostos fenólicos, formando derivados coloridos que causam o escurecimento poucos minutos após a exposição ao ar das porções a serem processadas. A rapidez da alteração na coloração é um fator extremamente importante para a comercialização dessa planta, e procedimentos que sejam efetivos na inibição desse processo representam uma etapa

importante no sentido de viabilizar economicamente o seu processamento.

Além das perdas durante o manuseio e o processamento, devido ao escurecimento, plantas que apresentam PPO e POD também são susceptíveis ao escurecimento durante o armazenamento, uma vez que a presença do oxigênio, que é o substrato secundário da PPO, pode ativar a enzima, que vai lentamente formando compostos coloridos em associação com a POD (Cano et al., 1990). O uso de embalagens de vidro é o mais recomendado para plantas processadas que apresentam essas enzimas, mas esse tipo de embalagem gera um custo adicional de transporte, encarecendo ainda mais o produto industrializado. As embalagens plásticas são atualmente um recurso atraente para minimizar os custos, mas, devido à porosidade do material, seu uso só é viável se a inativação enzimática for efetiva. Existem vários compostos que levam à inativação enzimática, mas, dentre aqueles que têm uso permitido em alimentos, poucos são totalmente efetivos para inativação dessas enzimas. Além disso, a maioria dos inibidores enzimáticos apresentam restrições de uso relativas ao teor, impacto ao meio ambiente e à saúde, além de apresentarem um custo elevado (Oga, 1996).

Neste trabalho, é apresentada uma alternativa de processamento que resultou em total inativação da PPO e uma atividade residual de POD, que permitiu o armazenamento de guariroba em sacos de polietileno por 60 dias, sem alteração de coloração.

Material e métodos

Reagentes

Polifenoloxidase, peroxidase, catecol, guaiacol, ácido cítrico e BSA obtidos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). FeCl_3 , $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, K_2HPO_4 , Na_2HPO_4 , H_2O_2 , sacarose, metabissulfato de sódio, ácido láctico e citrato monoidratado de marca Merck (Darmstadt, Germany). As amostras de guariroba com aproximadamente 3 anos de plantio foram adquiridas de uma plantação comercial na região de Itapuranga-GO.

Metodologia

As hastes, recebidas um dia após o corte, foram divididas em 6 grupos com 4 hastes cada, mantidas à temperatura ambiente em local sombreado. Cada grupo de hastes foi processado nos intervalos de 1, 2, 4, 6, 8 e 10 dias após a colheita.

Processamento

No momento do processamento e das análises, as hastes foram desembainhadas, fazendo-se o corte em

fatias de 1,0cm das partes aproveitáveis para consumo, cabeça e coração, que eram imediatamente colocadas em solução de espera contendo 1,0% (p/v) de ácido láctico, pH 1,75 e 5,0% (p/v) de NaCl, na proporção de 1,0g de guariroba para 10mL de solução de espera, por 10 minutos. A cabeça foi cubetada e o coração permaneceu em fatias. A mesma solução foi usada no processo de branqueamento em que as amostras foram levadas à fervura por 15 minutos, e, em seguida, transferidas para o processo de cozimento em solução fervente de NaCl 2,5% (p/v), por 15 minutos (Figura 1).

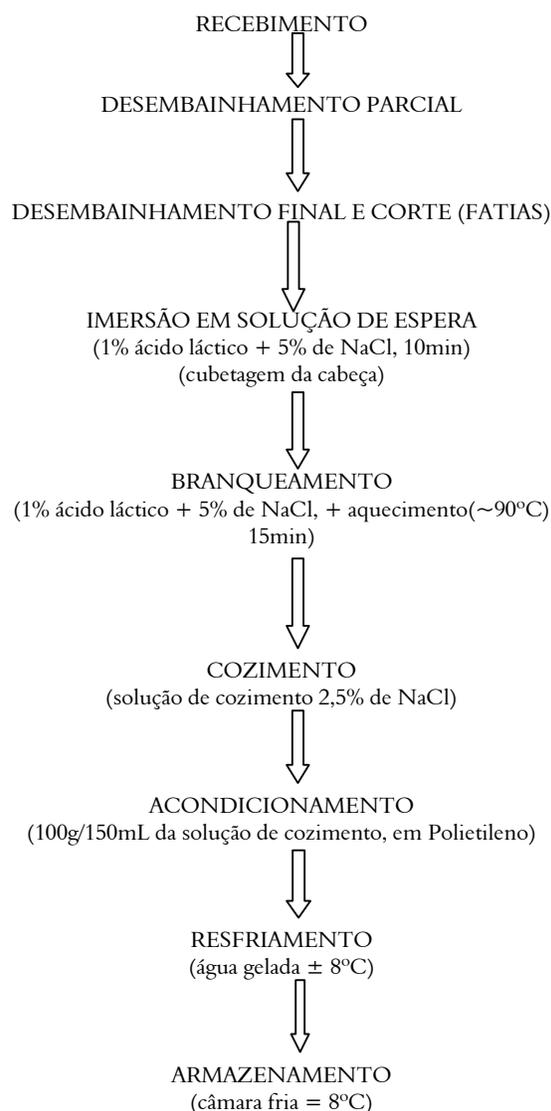


Figura 1. Fluxograma das etapas do processamento da guariroba com armazenamento em sacos de polietileno

Armazenamento - após o cozimento, a guariroba foi embalada a quente, em sacos de polietileno, em porções de 100g para 150mL da solução de cozimento. As embalagens foram seladas, evitando-se a presença de ar no interior; em seguida, foram resfriadas em água a 8°C e imediatamente armazenadas em câmara fria na mesma temperatura.

Extratos - alíquotas de 20g de guariroba (cabeça ou coração) foram maceradas mecanicamente com 100mL de tampão fosfato de sódio 50mmol L⁻¹/ sacarose 400mmol L⁻¹, pH 6,5 gelado, em seguida, peneirada e centrifugada, à temperatura ambiente, durante 5 minutos, a 5000 rpm.

As atividades de Peroxidase (POD) e de Polifenoloxidase (PPO) foram medidas seguindo a metodologia de Halpin e Lee (1987). Em ensaio padrão para POD, 0,1mL de extrato foi adicionado a 2,9mL de solução substrato contendo 0,5% (v/v) de guaiacol, 0,008 % (v/v) de H₂O₂ em tampão fosfato 0,1mol L⁻¹, pH 6,0. O ensaio se iniciava pela adição da amostra e procedia por 1 minuto, quando se processava a leitura a 470nm. Uma unidade de enzima foi definida como aumento de 0,1 unidade de absorbância por minuto. A atividade de PPO adicionando-se 0,1mL de extrato a 2,9mL de solução substrato contendo 46mmol L⁻¹ de catecol preparado em tampão Mellvaine's pH 6,5. O ensaio se iniciava pela adição da amostra e procedia por 1 minuto, quando se processava a leitura a 420nm. Uma unidade de PPO foi definida como aumento de 0,1 unidade de absorbância por minuto.

A avaliação física da cor foi realizada em colorímetro (Hunter Lab Color Quest II) pelo sistema Hunter, obtendo-se os valores de luminosidade (L), de intensidade de vermelho (a) e intensidade de amarelo (b).

Todas as análises foram realizadas durante o processamento e após o armazenamento da guariroba a 8°C, por 15, 30 e 60 dias.

Resultados e discussão

Após remoção da bainha, as guarirobas divididas em cabeça e em coração apresentaram um rendimento médio de 90,5%. O processamento da guarirobas resultou em perda de massa em torno de 9%, conforme pode ser observado na Tabela 1. Foi possível verificar uma perda gradual de peso nos dias após a colheita, a qual se deu de forma mais acentuada na cabeça. Além disso, após o 4º dia de colheita, as guarirobas começaram a apresentar deterioração em partes das hastes, acentuando as perdas do produto.

Ferreira *et al.* (1976), em trabalho de comparação das propriedades físico-químicas e organolépticas de

palmitos enlatados de cinco espécies diferentes de palmeiras, constatou que foram necessárias 2,7 unidades de palmitos de guariroba para serem enlatadas na proporção de 500g de palmito para 300g de salmoura, sendo este um rendimento baixo quando comparado à palmeira juçara, que obteve 85,8% de rendimento.

Tabela 1. Peso médio da cabeça e do coração de Guariroba antes e após processamento e percentagem de perda em dias após colheita

Dias após colheita	Cabeça peso fresco (g)	Peso cabeça cozida (g)	% Perda Ca
1	1913,5	1691,6	11,6
2	1963,8	1813,1	7,7
4	1677,0	1566,9	6,6
6	1725,9	1489,1	13,7
8	1240,7	1145,6	7,7
10	1453,8	1346,2	7,4

Dias após colheita	Coração peso fresco (g)	Peso coração cozido (g)	% Perda Co
1	735,0	676,7	7,9
2	1041,9	936,4	10,1
4	707,5	633,5	10,4
6	784,1	706,4	10,0
8	738,5	667,5	9,6
10	855,5	772,5	9,7

As atividades enzimáticas para a cabeça e para o coração, após tratamento por 10min em solução de espera, são mostradas nas Figuras 2 e 3. Como pode ser observado, há uma grande diferença no perfil de atividade das enzimas POD e PPO nos dias após a colheita estudados, que se devem principalmente às diferentes funções desempenhadas pelas enzimas na planta, que está sofrendo o stress de pós-colheita. A atividade de PPO sofre uma leve e gradual redução ao longo dos dias, independentemente da porção analisada. Já a POD apresentou um perfil de atividade crescente, com um pico máximo no 8º dia após a colheita, indicando que essa enzima deve desempenhar papel importante na planta que está sob stress. De modo geral, observa-se a mesma cinética de atividade para POD na cabeça e no coração.

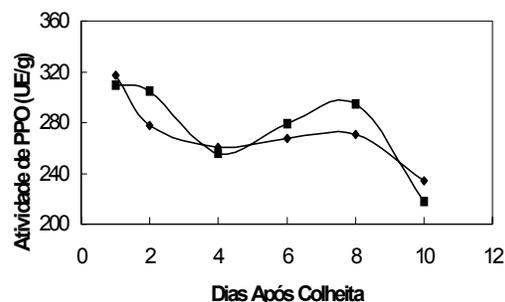


Figura 2. Atividade de PPO para guariroba "in natura", após tratamento com solução de espera por 10 minutos. ■ Coração; ◆ Cabeça

O processo de branqueamento resultou na completa inativação da PPO, pois embora essa enzima sofra inibição menor do que a POD no tratamento com ácido láctico, sua sensibilidade ao calor levou-a à sua completa inativação. Para a POD, a inativação não foi completa, mesmo com a combinação dos tratamentos (ácido láctico, calor e pH ácido). A resistência de POD à inativação térmica é bem conhecida (Chang *et al.*, 1988; Halpin *et al.*, 1989), sendo sua inativação utilizada como marcador para avaliação do sucesso de processos de branqueamento de muitas plantas (Weng *et al.*, 1991).

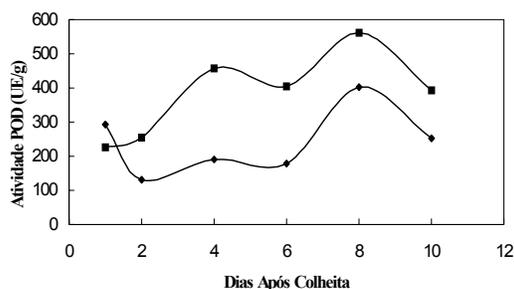


Figura 3. Atividade de POD para guariroba "in natura", após tratamento com solução de espera por 10 minutos. ■ Coração; ◆ Cabeça

Outro fator importante a ser monitorado é a capacidade de POD em recuperar sua atividade após tratamento térmico (Hemeda e Klein, 1991). Vários autores atribuem essa propriedade de POD à presença de isoenzimas termoestáveis, bem como à capacidade das POD de se renaturarem, tendo o centro heme como núcleo orientador (Hemeda e Klein, 1991; Weng *et al.*, 1991; Yemenicioglu *et al.*, 1998).

Os resultados da atividade enzimática nas guarirobas após armazenamento são apresentados na Tabela 2. Como pode ser observado, há um residual de atividade de POD tanto para cabeça quanto para o coração, que cresce à medida que aumentam os dias de pós-colheita e de armazenamento em câmara fria.

Tabela 2. Atividade de POD (UE/g) em amostras de guarirobas armazenadas em sacos de polietileno, a 8°C

Dias Após Colheita	Cabeça			Coração		
	Armazenamento			Armazenamento		
	15 dias	30 dias	60 dias	15 dias	30 dias	60 dias
1	12,5	6,5	9,0	13,0	6,5	21,0
2	4,0	6,0	11,0	4,0	6,0	12,0
4	3,5	9,0	13,0	4,0	13,0	13,5
6	3,5	8,0	7,5	5,0	7,5	13,0
8	4,0	20,0	13,0	6,0	22,0	23,0
10	5,0	14,0	14,0	5,0	18,0	16,5

Os testes de POD feitos na solução de acondicionamento revelaram o mesmo perfil

encontrado nas partes processadas (Figura 4). Esses resultados evidenciam que a enzima está sendo lentamente liberada da guariroba à medida que esta permanece armazenada, sendo o efeito mais acentuado após o 4º dia de colheita, que, somado às deteriorações observadas nas hastes, tornam inconveniente a utilização destas para industrialização.

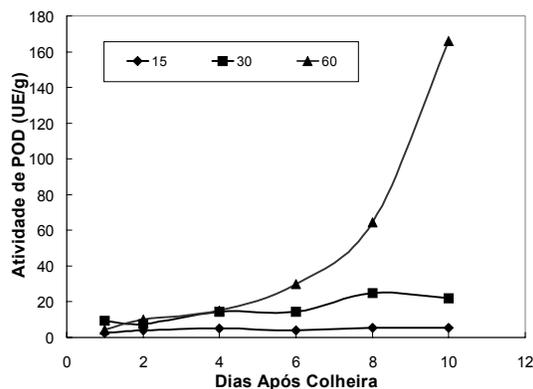


Figura 4. Atividade de POD presente na solução de acondicionamento de guarirobas nos diferentes dias após processamento

Embora se tenha um residual de atividade para POD, essa enzima não está causando o escurecimento graças à ausência de atividade de PPO e à ação combinada dos tratamentos ácido e térmico e do armazenamento em câmara fria. Esta ação combinada foi essencial para o sucesso desse processamento, pois é bastante conhecida a resistência da POD aos diversos tratamentos existentes, o que tem gerado grande dificuldade para as indústrias em processar frutos e vegetais que apresentem alto teor dessa enzima (Bhamidipati e Singh, 1996).

Nos testes de luminosidade, apesar de as amostras terem sido colhidas no mesmo dia e acondicionadas de maneira idêntica, encontramos uma variação nos valores, provavelmente devido à presença de diferentes variedades de guariroba na amostra colhida. Ferreira *et al.* (1976) mostraram em seu trabalho que o palmito de guariroba não apresenta grande alteração na coloração decorrente do processamento, apresentando os valores mais altos de luminosidade comparado com os palmitos de açaí e de juçara.

As luminosidades médias para a cabeça e para o coração são apresentadas na Figura 5. Os valores iniciais foram obtidos antes do processamento, após a imersão das guarirobas em solução de espera (tempo zero). Nessas condições, obtivemos uma luminosidade média para cabeça e para o coração de 72 e 73, respectivamente, indicando uma excelente coloração para ambas as partes. Após o processamento, há uma ligeira queda no valor de

luminosidade, que para a porção da cabeça é menor com o decorrer dos dias de armazenamento. Já para o coração, observa-se uma queda mais acentuada a partir dos 15 dias de armazenamento, embora não haja ainda alteração visível na coloração.

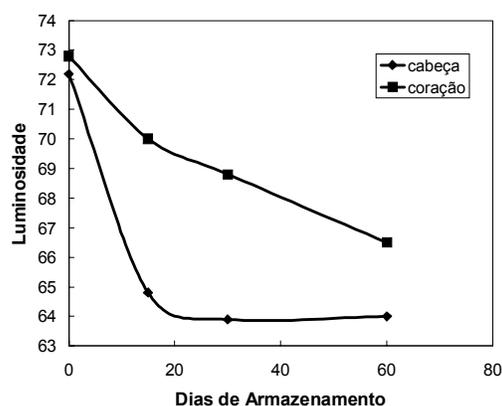


Figura 5. Luminosidade média para cabeça e coração medida nos dias após armazenamento a 8°C

Nas Tabelas 3 e 4 são apresentados os valores de intensidade de amarelo para a cabeça e para o coração, representando a tonalidade de cor para a guariroba. Observa-se uma leve diminuição dessa intensidade quando comparada à amostra antes do processamento (inicial). A manutenção dos valores de amarelo estáveis aponta realmente a eficácia do processamento na inativação enzimática, pois a ausência de formação de produtos coloridos é indicativo de que as enzimas estão inativas e, portanto, incapazes de provocar o escurecimento.

Tabela 3. Intensidade de cor média para amarelo da cabeça em dias após colheita e após armazenamento

Dias após colheita	Armazenamento			
	Inicial	15 dias	30 dias	60 dias
1	16,4	10,8	10,8	11,4
2	15,2	13,7	11,4	11,8
4	17,3	13,9	12,9	11,2
6	17,3	12,2	11,7	11,7
8	16,6	12,7	12,8	13,3
10	16	10,8	12,2	12,4
Média	16,6	12	12	12

Tabela 4. Intensidade de cor média para amarelo do coração em dias após colheita e após armazenamento

Dias após colheita	Armazenamento			
	Inicial	15 dias	30 dias	60 dias
1	13,9	12	10,7	12,71
2	14,5	10,9	11,24	12,4
4	16,4	16,3	14,3	14,8
6	16	11,6	12,2	13,7
8	17,3	11,9	12,8	15
10	17,3	12,4	12,8	13,1
Média	16	13	12	13

Conclusão

A observação dos dados obtidos neste trabalho nos permitem concluir que o processamento proposto foi bastante efetivo na inativação das enzimas responsáveis pelo escurecimento da guariroba. A efetividade do processo deveu-se à combinação de três agentes: o ácido láctico, que agiu como inibidor bastante eficiente para POD e na manutenção do pH na faixa ácida, em que essa enzima não apresenta atividade; e o calor do processo de cozimento, que foi bastante eficiente na inativação de PPO. Essa combinação de fatores permitiu o armazenamento de guarirobas em sacos de polietileno, em câmara fria (8°C), por 60 dias, sem alteração visível na coloração. Após esse período, foi observada uma recuperação da atividade de POD.

O aproveitamento máximo das hastes se dá até o 4º dia após a colheita. A partir desse dia, há uma recuperação gradual e crescente da atividade de POD, permitindo-nos sugerir que para um processamento mais eficiente e com maior aproveitamento econômico, as guarirobas devem ser processadas até o 3º dia após a colheita, garantindo com isso a qualidade do produto industrializado.

Referências

- ARSLAN, O. *et al.* Polyphenol-Oxidase from *Allium sp.* *J. Agric. Food Chem.*, Washington, DC, v. 45, n. 8, p.2861-2863, 1997.
- BHAMIDIPATI, S.; SINGH, R. K. Model System for Aseptic Processing of Particulate Foods using Peroxidase, *J. Food Sci.*, Chicago, v. 61, n. 1, p.171-175, 1996.
- CANO, P. *et al.* Freezing of Banana Slices. Influence of Maturity Level and Thermal Treatment Prior to Freezing. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 55, p.1070-1072, 1990.
- CHANG, B.S. *et al.* Thermal Inactivation Kinetics of Horseradish Peroxidase. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 53, p.920-923, 1988.
- FERREIRA, V.L. *et al.* Comparação Físico-Químico-Organoléptica do Palmito de Cinco Espécies de Palmeiras. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 7, p.389-415, 1976.
- FLURKEY, W.H.; JEN, J.J. Peroxidase and Polyphenoloxidase Actives in Developing Peaches. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 43, p.1826-1831, 1978.
- GOY, P.A. *et al.* Resistance to Disease in the Hibrid Nicotina glutinosa X Nicotina debneyi is Associated with High Constitutive Levels of β -1,3-glucanase, Chitinase, Peroxidase and Polyphenoloxidase. *Physiol. Mol. Plant Path.*, London, v. 41, p.11-21, 1992.
- HALPIN, B.E.; LEE, C.Y. Effect of Blanching on Enzyme Acitivity and Quality Changes in Gree Peas. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 52, p.1002-1005, 1987.

- HALPIN, B *et al.* Purification and Characterization of Peroxidase Isoenzymes from Green Peas (*Pisum sativum*). *J. Food Sci.*, v. 54, p.644-649, 1989.
- HEMEDA, H.M.; KLEIN, B.P. Inactivation and regeneration of peroxidase activity in vegetables extracts treated with antioxidants. *J. Food. Sci.*, Chicago, v. 56, n. 1, p. 68-71, 1991.
- OGA, S. - Aditivos alimentares, *In: Fundamentos de Toxicologia*, São Paulo: Atheneu, 1996, parte 5, p. 405-440.
- VIGYÁZO-VÁMOS, L. Polyphenol oxidase and Peroxidase in Fruits and Vegetables. *Critical Rev. Food Sci. Nut.*, Boca Raton, v. 20, p.49-127, 1981.
- WENG, Z. *et al.* Thermostability of Soluble and Immobilized Horseradish Peroxidase. *J. Food. Sci.*, Chicago, v. 56, p.567-570, 1991.
- YEMENICIOGLU, A. *et al.* Thermal Stabilities of Peroxidases from Fresh Pinto Beans. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 63, n. 6, p.987-990, 1998.

Received on October 16, 2002.

Accepted on May 22, 2003.