

**EBER ANTONIO ALVES MEDEIROS**

**DETERIORAÇÃO PÓS-COLHEITA DA MANDIOCA MINIMAMENTE  
PROCESSADA**

**Tese apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação  
em Fisiologia Vegetal, para  
obtenção do título de *Doctor  
Scientiae*.**

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M488d  
2009

Medeiros, Eber Antonio Alves, 1965-  
Deterioração pós-colheita da mandioca minimamente  
processada / Eber Antonio Alves Medeiros. – Viçosa, MG,  
2009.

x, 101f.: il. ; 29cm.

Orientador: Rolf Puschmann.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. [93]-101.

1. Mandioca - Fisiologia pós-colheita. 2. Mandioca -  
Processamento. 3. Mandioca - Conservação. 4. Enzimas.

I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 633.682

EBER ANTONIO ALVES MEDEIROS

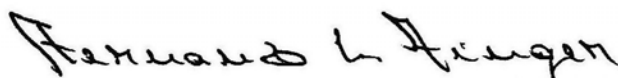
DETERIORAÇÃO PÓS-COLHEITA DA MANDIOCA MINIMAMENTE  
PROCESSADA

Tese apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação  
em Fisiologia Vegetal, para  
obtenção do título de *Doctor  
Scientiae*.

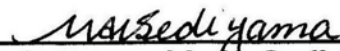
APROVADA: 13 março de 2009.



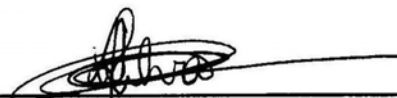
Profa. Nilda de Fátima F. Soares  
(Coorientadora)



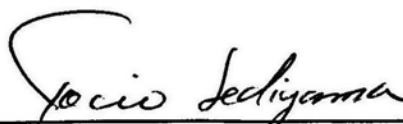
Prof. Fernando Luiz Finger



Pesq. Maria Aparecida N. Sedyama



Prof. Washington Azevedo da Silva



Prof. Tocio Sedyama  
(Presidente da Banca)

*Aos meus pais, Adélia e Hamilton e meu afilhado Eduardo,  
dedico.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela forte presença nos momentos difíceis e por todas as bênçãos em minha vida.

Ao meu anjo da guarda pela infinita proteção.

À minha família pelo apoio, carinho e compreensão pelos momentos de ausência.

À Universidade Federal de Viçosa, em particular ao curso de Fisiologia Vegetal, pela acolhida, e à CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Aos meus coorientadores, Profa. Nilda de Fátima Ferreira Soares e Prof. Tocio Sedyama, pela amizade, confiança, respeito e, principalmente pelos ensinamentos científicos e éticos.

Aos professores Fábio Murilo da Matta, Fernando Luiz Finger e Raimundo Santos Barros pelo apoio nos momentos decisivos.

Aos professores e funcionários dos departamentos de Biologia Vegetal, Fitotecnia e Tecnologia de Alimentos, pelo apoio na realização das pesquisas, especialmente ao José Geraldo Araújo, sem o qual seria muito difícil a montagem dos experimentos.

Aos amigos Ana Maria, Ana Paula, Camila, Clarice, Cleiton, Daniel, Eulene, Fernanda, Giovanni, Hermes, Larissa, Luciana Barbosa, Luciana Menolli, Marialva, Mateus e Teresa, pela ajuda e apoio na condução do experimento. E, principalmente pela amizade sincera, que as lágrimas e os sorrisos fortaleceram durante nossa convivência.

Aos “irmãos da turma da coada” Cristina, Daniela, Davi, Fábio, Franceline, Leandro, Lucas, Marcelo, Mateus, Silvane e Washington pelo carinho, amizade e momentos maravilhosos vividos nas nossas reuniões.

Às estagiárias Clara, Érica, Juliana e Onara, pelo auxílio no processamento mínimo e nas análises no laboratório durante os fins-de-semana e feriados.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, a minha gratidão e reconhecimento.

## **BIOGRAFIA**

Eber Antonio Alves Medeiros, filho de Hamilton Medeiros e de Adélia Alves Medeiros, nasceu em Lages, no estado de Santa Catarina, no dia 07 de julho de 1965.

Em agosto de 1989 ingressou no curso de Agronomia na Universidade do Estado de Santa Catarina, no Centro de Ciências Agro-veterinárias, graduando-se Engenheiro Agrônomo em junho de 1994.

Em março de 1997 iniciou o curso de Mestrado em Produção Vegetal na Universidade Federal de Santa Maria, defendendo dissertação em fevereiro de 1999.

De janeiro de 1999 a junho de 2002, trabalhou como encarregado do controle de qualidade e armazenamento de maçãs na empresa Gala Frigoríficos Ltda., em Vacaria, RS.

Em agosto de 2004 ingressou no curso de Doutorado em Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa, defendendo tese em março de 2009.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	4
<b>ADEQUAÇÃO DE FLUXOGRAMA DE PROCESSAMENTO MÍNIMO</b> .....	
1. INTRODUÇÃO .....	4
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	8
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	18
4. CONCLUSÕES .....	41
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	
<b>AVALIAÇÃO DA ATMOSFERA INTERNA DAS EMBALAGENS COM MANDIOCA MINIMAMENTE PROCESSADA</b> .....	42
1. INTRODUÇÃO .....	42
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	45
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
4. CONCLUSÕES .....	56
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	
<b>EFEITO DE ANTIOXIDANTES NA DETERIORAÇÃO FISIOLÓGICA PÓS-COLHEITA DE MANDIOCA MINIMAMENTE PROCESSADA</b> .....	57
1. INTRODUÇÃO .....	57

2. MATERIAL E MÉTODOS .....	60
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	69
4. CONCLUSÕES .....	90
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>93</b>

## RESUMO

MEDEIROS, Eber Antonio Alves, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, março de 2009. **Deterioração pós-colheita da mandioca minimamente processada.** Orientador: Rolf Puschmann. Coorientadores: Nilda de Fátima Ferreira Soares, Tocio Sedyama e Adriano do Nascimento Simões.

As raízes de mandioca apresentam alta perecibilidade pós-colheita, em função da deterioração fisiológica que se desenvolve nos locais injuriados, dois a três dias após a colheita em condições ambientais. A deterioração fisiológica é caracterizada pelo aparecimento de estrias azuladas na polpa, que progride por toda a extensão da raiz, sendo a causa inicial da perda de aceitabilidade das raízes *in natura*. Esse escurecimento é atribuído a reações que envolvem as enzimas fenilalanina amônia liase, polifenoloxidase e peroxidase. Objetivou-se com esse trabalho avaliar os efeitos físicos, fisiológicos e bioquímicos das etapas do processamento mínimo, do uso de antioxidantes e de embalagens sobre a deterioração fisiológica em raízes de mandioca, durante o período de conservação, visando prolongar a vida útil do produto final, bem como garantir sua segurança alimentar durante a distribuição, comercialização e consumo. Foram usadas raízes de mandioca cv. Cacauzinha com 16 meses de idade. Na adequação do fluxograma de processamento mínimo, o sanitizante com melhor controle da microbiota foi o dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada na concentração de 200 mg.L<sup>-1</sup> e, o tempo de centrifugação necessário para retirada do excesso de água aderida foi de 60 s, a 800 g. Os antioxidantes ácido ascórbico e ácido cítrico proporcionaram melhor controle no desenvolvimento da deterioração fisiológica pós-colheita na concentração de 3 % e, a combinação de ambos na proporção de 2:1 apresentou efeito positivo sobre o desenvolvimento de *Pseudomonas* sp. e, as embalagens de polipropileno e poliolefina multicamadas controlaram o desenvolvimento de deterioração fisiológica pós-colheita, durante 6 e 12 dias de conservação a 8 ± 2 °C e 90 ± 5 % UR, respectivamente. A atmosfera modificada promovida pela embalagem de polipropileno, com níveis em torno de 5 % O<sub>2</sub> e 8 % CO<sub>2</sub>, controlou a incidência de deterioração fisiológica pós-colheita por seis dias e o desenvolvimento de

*Pseudomonas* sp. até nove dias de conservação. O tratamento com os antioxidantes ácido ascórbico e ácido cítrico proporcionou menores valores de pH; teores de açúcares solúveis totais e redutores; atividade das enzimas fenilalanina amônia liase, polifenoloxidase e peroxidase; índice de escurecimento e incidência de deterioração fisiológica pós-colheita e *Pseudomonas* sp., em relação ao tratamento sem antioxidante. Entretanto, os teores de amido e o conteúdo de compostos fenólicos apresentaram maiores valores no tratamento com antioxidante. O tratamento com os antioxidantes ácido ascórbico e ácido cítrico controlou a deterioração fisiológica pós-colheita até seis dias a 8 °C.

## ABSTRACT

MEDEIROS, Eber Antonio Alves, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, March, 2009. **Postharvest physiological deterioration in minimally processed cassava roots**. Adviser: Rolf Puschmann. Co-advisers: Nilda de Fátima Ferreira Soares, Tocio Sedyama and Adriano do Nascimento Simões.

The roots of cassava present high postharvest perishability due to physiological deterioration that develops in wounded tissues usually within two to three days after harvest at room temperature. The physiological deterioration is characterized by the appearance of blue-black streaks in the root vascular tissue and storage parenchyma, which progresses through the whole length of the root, being the initial cause for the poor acceptability for fresh consumption. This darkening is attributed to reactions involving the enzymes phenylalanine ammonia lyase, polyphenol oxidase and peroxidase. The objective of this work was to evaluate the effects biochemical, physiological and physical phases by the called minimal processing, the use of antioxidants and of packaging on the development of physiological deterioration in cassava roots during a period of preservation, in order to extend the shelf-life of the product, as well as to ensure food safety during the commercialization, distribution and consumption. Cassava roots cv Cacauzinha with sixteen months old were used for the minimal processing. To process the roots, the sanitizer sodium dichlorine s-triazinetrione dihydrate at concentration of 200 mg L<sup>-1</sup> showed a better control of the macrobiotic contamination. The length of time for centrifugation necessary to remove the excess water adhered was 60 seconds at 800 g. The antioxidants ascorbic acid and citric acid provided better control to inhibit the development postharvest physiological deterioration used at 3 % solution, and the combination of both in a ratio of 2:1 showed positive effect in controlling *Pseudomonas* sp. contamination. The plastic films polypropylene and polyolefin multilayer controlled the development of postharvest physiological deterioration for six and twelve days of storage at 8 ± 2 °C and 90 ± 5 % RH, respectively. The modified atmosphere promoted by the polypropylene film, changed the level of O<sub>2</sub> to 5 % and CO<sub>2</sub> to close 8 %, controlling the incidence of physiological deterioration for six days and

the development of *Pseudomonas* sp. up to nine days. Treatment with the antioxidants ascorbic acid and citric acid provided lower values of pH, total soluble and reducing sugars content, activity of the enzymes phenylalanine ammonia lyase, polyphenol oxidase and peroxidase, as well as browning index and incidence of postharvest physiological deterioration and *Pseudomonas* sp. compared to untreated roots. However, the contents of starch and the content of phenolic compounds showed higher values when treated with antioxidants. Treatment with ascorbic acid and citric acid controlled postharvest physiological deterioration up to six days at 8 °C.

## 1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura tropical, rústica e adequada a regiões semi-áridas, cujas raízes são fonte de carboidratos. É a base da alimentação de 700 milhões de pessoas no mundo (Folegatti e Matsuura, 2006). O consumo *per capita* mundial de mandioca e derivados, em 1996, foi em torno de 17 kg/hab/ano. No Brasil, o consumo foi próximo a 51 kg/hab/ano, muito acima da média mundial (Souza e Fialho, 2003). O Brasil produziu cerca de 26,6 milhões de toneladas de raízes no ano de 2006 (IBGE, 2007), sendo o cultivo caracterizado por plantios em pequena escala, basicamente de subsistência nas regiões Norte e Nordeste, e de grande escala no Sul, Sudeste e Centro-Oeste (Folegatti e Matsuura, 2006).

O destino comercial da mandioca depende de sua classificação, considerando-se o teor de cianeto: mandioca brava ou amarga e mandioca mansa ou doce. A mandioca brava é destinada para a indústria de farinha. A mandioca mansa, também chamada mandioca de mesa é comercializada principalmente nas formas: inteira com casca; apenas descascada e lavada; congelada; cozida ou pré-cozida. Atualmente, a mandioca descascada tem boa aceitação no mercado e é comercializada em feiras livres, supermercados e outros estabelecimentos comerciais, por um preço de 25 a 50 % superior ao da mandioca com casca. No entanto, não pode ser confundido com produto minimamente processado, por não apresentar segurança alimentar, pois o produto não é higienizado e nem mantido sob refrigeração, o que pode aumentar a sua perecibilidade (Cereda e Vilpoux, 2003).

As raízes de mandioca, logo após a colheita, apresentam alta perecibilidade, o que tem sido uma preocupação dos produtores e das indústrias de farinha, devido ao curto período de conservação das mesmas. Dois fenômenos são apontados como responsáveis pela deterioração das raízes, um de ordem fisiológica, provocando a perda inicial da qualidade pelo

desenvolvimento do escurecimento dos tecidos vascular e parenquimático, e o outro de ordem microbiana, que se segue à fisiológica, responsável pela decomposição do produto (Beeching *et al.*, 1994; Alves *et al.*, 2005).

A alta perecibilidade da mandioca *in natura* faz com que a mesma tenha que ser consumida dentro de um período muito curto após a colheita e, como as regiões produtoras estão cada vez mais distantes dos centros consumidores, observa-se a necessidade de se desenvolver tecnologias de pós-colheita visando aumentar a vida útil da mesma, desobrigando o produtor de vender a mandioca de melhor qualidade apenas para a indústria de farinha, a preços muito baixos (Cereda e Vilpoux, 2003). Assim sendo, o processamento mínimo surge como alternativa para agregar valor à matéria-prima e, aumentar a renda do produtor rural, visto que a mandioca apresenta potencial de adequação a essa tecnologia (Bezerra *et al.*, 2002).

Os produtos minimamente processados têm-se tornado cada vez mais populares pela conveniência, pelos benefícios de um produto natural fresco, qualidade do produto, por ser embalado em pequenas porções e, principalmente, por estar pronto para o consumo (Moretti, 2007).

A manipulação do produto durante o processamento mínimo, promove injúrias mecânicas no produto que induzem respostas fisiológicas e bioquímicas, em relação àquelas observadas em produtos intactos (Cantwell, 1992; Carnellosi, 2000). Essas injúrias diminuem a qualidade e o tempo de vida útil do produto, pois promovem aumento da taxa respiratória e da síntese de etileno (Brecht, 1995), síntese de compostos fenólicos totais (Ke e Saltveit, 1989), perda de integridade celular na superfície cortada, com consequente descompartimentalização de enzimas e seus substratos (Silva *et al.*, 2003), promovendo aumento da atividade das enzimas fenilalanina amônia liase (PAL) (Abe e Watada, 1991), polifenoloxidase (PPO) (Rolle e Chism, 1987) e peroxidase (POD) (Watada *et al.*, 1990), enzimas essas envolvidas diretamente com a deterioração fisiológica pós-colheita. Também são observadas mudanças na cor, sabor, textura e qualidade nutricional, determinando assim, a sua aceitação ou não pelos consumidores (Kleiber e Kim, 1998; Cantwell, 1992; Cereda e Vilpoux, 2003).

Objetivou-se com esse trabalho avaliar a deterioração fisiológica pós-

colheita em raízes de mandioca considerando os efeitos físicos, fisiológicos e bioquímicos das etapas do processamento mínimo, do uso de antioxidantes e de embalagens, durante o período de conservação, visando prolongar a vida útil do produto final, bem como garantir sua segurança alimentar durante a comercialização, distribuição e consumo.

## CAPÍTULO 1

### ADEQUAÇÃO DE FLUXOGRAMA DE PROCESSAMENTO MÍNIMO

#### 1. INTRODUÇÃO

O produto minimamente processado é definido como qualquer fruta, hortaliça, raiz ou outro órgão vegetal comestível *in natura*, ou combinação destes, fisicamente alterado pelas diversas etapas de transformação física (descasque, corte, fatiamento ou torneamento), higienização, centrifugação ou drenagem e embalagem, mas que continua fresco (Puschmann *et al.*, 2006; Moretti, 2006).

Esses vegetais seguem um fluxograma durante o seu processamento, visando minimizar os danos provocados, pois as etapas do processamento mínimo causam estresse e injúrias mecânicas nos tecidos e podem promover respostas indesejáveis no produto final. Alguns produtos vegetais já estão com os fluxogramas definidos, como por exemplo: couve (Carnelossi, 2000); repolho (Silva, 2000) e cenoura (Silva, 2003). No caso de mandioca minimamente processada há necessidade da definição de um fluxograma, o qual pode ser feito tomando-se como base um produto com fluxograma definido, adequando-o para mandioca, principalmente em seus pontos críticos, como sanitização, uso de antioxidante, centrifugação e embalagem.

A lavagem inicial e a sanitização são processos que provocam injúrias nas raízes, porém são etapas necessárias porque visam diminuir a carga microbiana dos produtos minimamente processados. Na mandioca *in natura* a deterioração microbiológica desenvolve-se entre cinco a sete dias após a colheita, em temperatura ambiente (Brecht, 1995) e, portanto, espera-se que na mandioca minimamente processada esse período possa ser reduzido pela maior exposição do tecido à microbiota, devido aos cortes e manipulação do produto (Brackett,

1989).

As alterações microbiológicas que ocorrem em vegetais minimamente processados variam segundo a composição da microflora de cada produto. Fatores como ambiente, manipulação, qualidade da água, temperatura, umidade e atmosfera no interior da embalagem e a acidez do produto, influenciam no desenvolvimento de microorganismos durante a conservação (Watada *et al.*, 1996). O ambiente é o primeiro fator contaminante dos alimentos. A presença de elevado número de contaminantes na mandioca é normal, considerando que se trata de uma raiz e o solo é fonte da maioria dos microorganismos de importância alimentar (Vanetti, 2000). A temperatura de refrigeração exerce efeito na redução da proliferação microbiana, contribuindo para predominância de psicotróficos, como as bactérias do gênero *Pseudomonas* sp., os quais são os maiores deterioradores de hortaliças (Bracket, 1989). As bactérias *Pseudomonas* sp. são produtoras de pectinases, enzimas que causam a liquefação dos tecidos vegetais (Nguyen-The e Carlin, 1994). A atmosfera no interior da embalagem afeta não apenas o metabolismo do produto, mas é fundamental na seleção e controle da microflora, pois altas concentrações de CO<sub>2</sub> têm efeito inibitório sobre enzimas do metabolismo energético dos microorganismos (Daniels *et al.*, 1985)

A sanitização geralmente é feita com compostos a base de cloro, o qual em altas concentrações pode causar dano ao tecido vegetal, bem como deixar cheiro e sabor no produto e provocar corrosão de equipamentos (Bolin *et al.*, 1977; Brecht, 1995; Lund *et al.*, 2005).

O cloro é um potente sanitizante, sendo sua eficiência dependente de fatores como concentração, tempo de exposição, temperatura, pH e microbiota presente. Dentre esses, o pH e o teor de cloro devem ser monitorados frequentemente. (Cherry, 1999). Em soluções com pH superior a 7,5 há redução na atividade germicida. A melhor combinação de atividade e estabilidade é alcançada na faixa de pH entre 6,5 e 7,5. O cloro é solúvel em água seja pela injeção de gás (Cl<sub>2</sub>), ácido hipocloroso (HOCl) ou íons hipoclorito (OCl<sup>-</sup>) em quantidades que variam com o pH da água (Pineli e Moretti, 2007). O cloro pode diminuir sua concentração na água em função da matéria orgânica, diminuindo assim, a concentração de cloro livre que atua sobre microorganismos. A concentração de cloro ativo pode reduzir a população microbiana em até dois

ciclos logarítmicos (Vanetti, 2007). Porém, o uso de cloro está sendo restringido na Europa (Soares, 2007), devido à formação de trihalometanos e cloraminas na presença de matéria orgânica (Macedo *et al.*, 1999). Em decorrência disso, outros produtos como ozônio, peróxido de hidrogênio e ácido peracético vêm sendo testados, com intuito de definir concentrações que diminuam a carga microbiana, a níveis seguros para a alimentação (Vanetti, 2000; Oliveira *et al.*, 2003; Lund *et al.*, 2005).

Nesse contexto, o uso de ácido peracético, é uma alternativa promissora ao uso de cloro, em concentrações que não excedam  $80 \text{ mg.L}^{-1}$  (Ruiz-Cruz *et al.*, 2007). O ácido peracético, que em água decompõe-se em ácido acético e peróxido de hidrogênio, é um forte desinfetante com largo espectro de atividade antimicrobiana, mesmo na presença de matéria orgânica, ausência de resíduos ou subprodutos tóxicos e/ou mutagênicos, descloração desnecessária, baixa dependência do pH e curto tempo de contato (Souza e Daniel, 2005). No entanto, com todas as vantagens do ácido peracético, a sanitização de frutas e vegetais na maioria dos casos é feita com compostos à base de cloro (Vanetti, 2000; Lund *et al.*, 2005).

A centrifugação, outra etapa importante do fluxograma de processamento, nada mais é que a retirada de resíduos de suco celular e da água aderida ao produto durante as etapas de lavagem, sanitização e enxágues (Silva *et al.*, 2004). A retirada da água é importante para reduzir o crescimento microbiano, pois o desenvolvimento de microorganismos está diretamente relacionado à presença de água livre no produto (Setor1, 2007). Entretanto, a água não deve ser retirada em excesso, para evitar a dessecação do tecido e, conseqüentemente a produção de etileno por estresse, o que pode promover a síntese de enzimas que estão envolvidas com a deterioração fisiológica pós-colheita (Yang, 1985; Cantwell, 1992).

A embalagem é parte fundamental do processamento mínimo e, tem como funções conter, proteger e facilitar a manipulação do produto durante a distribuição e comercialização. A tecnologia de embalagens é um setor que vem apresentando maior avanço tecnológico nos últimos tempos, com o desenvolvimento de filmes com novas características como, por exemplo, as embalagens ativas e inteligentes, as quais estão sendo testadas em diferentes

partes do mundo (Soares e Geraldine, 2007).

Os plásticos atualmente indicados para embalagem de produtos minimamente processados são: polietileno (PE) com diferentes densidades; polipropileno (PP); poliestireno (PS); filmes de poli (cloreto de vinila) (PVC), poliolefinicos e microperfurados (Sarantópoulos *et al.*, 2001). O uso de um ou de outro tipo de embalagem está associado às diferentes taxas de respiração dos vegetais que fazem necessário adequar a embalagem ao produto acondicionado de acordo com a permeabilidade, principalmente aos gases O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e etileno e, também ao vapor de água (Silva *et al.*, 2003).

A conservação sob refrigeração é um fator essencial no prolongamento da vida pós-colheita de produtos frescos, uma vez que as baixas temperaturas reduzem o metabolismo e, conseqüentemente, a taxa de respiração, produção e sensibilidade ao etileno, perda de umidade e desenvolvimento de patógenos (Watada *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 1993). Porém, a mandioca minimamente processada, mesmo mantida sob refrigeração, permite o crescimento de microrganismos psicotróficos, como *Pseudomonas* sp. e também algumas leveduras, com taxa de crescimento relacionada com a temperatura de conservação, conforme observado em experimentos preliminares.

Objetivou-se com esse trabalho definir o fluxograma de processamento mínimo para raízes de mandioca.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Material vegetal**

As raízes de mandioca, cultivar Cacauzinha, foram produzidas no campo experimental da Universidade Federal de Viçosa em Coimbra, MG e em uma propriedade particular no município de Pedra do Anta, MG. As raízes, com 16 meses de idade, foram colhidas manualmente, acondicionadas em caixas plásticas e, em seguida, transportadas para a unidade de processamento mínimo na UFV, onde foram imediatamente processadas.

### **2.2. Adequação do fluxograma**

Para a adequação do fluxograma de processamento mínimo das raízes de mandioca, somente as etapas de sanitização, tratamento antioxidante, centrifugação e embalagem foram estudadas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições para todos os experimentos.

#### **2.2.1. Sanitização**

##### **a) Avaliação do sanitizante**

Nessa etapa do processamento mínimo foram testados três tipos de sanitizantes, dois a base de cloro, dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>) e dióxido de cloro (Tecsá Clor<sup>®</sup>) e o ácido peracético, em três experimentos. Os parâmetros avaliados foram desenvolvimento de coliformes totais, coliformes a 45 °C e psicotróficos, por meio de análise microbiológica e, *Pseudomonas* sp., um psicotrófico, por meio de avaliação visual de seu sintoma.

Experimento 1 - Foi utilizado o sanitizante dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>) nas concentrações de 50, 100, 150 e 200 mg.L<sup>-1</sup>, além de um tratamento testemunha, sem sanitizante.

Experimento 2 - Foram comparados o dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>) na concentração de 200 mg.L<sup>-1</sup> com o dióxido de cloro nas concentrações de 25 e 50 mg.L<sup>-1</sup>, conforme recomendação do fabricante, além de um tratamento testemunha, sem sanitizante.

Experimento 3 - Foram comparados o dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>) na concentração de 200 mg.L<sup>-1</sup> com o ácido peracético nas concentrações de 40, 60 e 80 mg.L<sup>-1</sup>, além de um tratamento testemunha, sem sanitizante.

Para a sanitização, os pedaços de mandioca foram acondicionados em sacos de náilon e imersos na solução sanitizante a  $5 \pm 1$  °C por 10 min. Os pedaços de mandioca sanitizados com dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada, foram enxaguados com água clorada (3 mg.L<sup>-1</sup> de cloro ativo), em torno de  $5 \pm 1$  °C por 5 min para remoção do excesso de sanitizante. Aqueles tratados com dióxido de cloro e ácido peracético não foram enxaguados, pois de acordo com a literatura e descrição dos fabricantes não há necessidade de enxágue porque não deixam resíduos (Souza e Daniel, 2005; Serquimico, 2009).

Cada tratamento constituiu-se de cinco repetições, com 10 pedaços de mandioca, de  $\pm 5$  cm de comprimento, por repetição.

As avaliações foram feitas a cada três dias por um período de 12 dias de conservação a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR.

## **b) Avaliação do desenvolvimento de *Pseudomonas* sp.**

A avaliação de *Pseudomonas* sp. foi feita visualmente considerando-se a presença ou ausência dos sintomas característicos, que foram manchas amarelo-esverdeadas por toda a superfície dos pedaços de mandioca. A confirmação de que o sintoma era realmente de *Pseudomonas* foi feita através de análise microbiológica e visualmente, por meio de luz ultravioleta, na qual a bactéria, quando presente, emite fluorescência (Vanetti, 2008). Essas manchas inicialmente eram pontuais e com o passar do tempo, desenvolveram-se por toda

a superfície dos pedaços de mandioca.

As avaliações foram feitas a cada três dias por um período de 12 dias de conservação a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR.

## **2.2.2. Tratamento antioxidante**

### **a) Avaliação do antioxidante**

Durante a etapa de enxágue final, os pedaços de mandioca foram submetidos ao tratamento com antioxidantes: ácido ascórbico (AA) e ácido cítrico (AC). Esses produtos foram avaliados em três experimentos, a saber:

Experimento 1 – Avaliação do desempenho do ácido ascórbico nas concentrações de 1, 2 e 3 %;

Experimento 2 – Avaliação do ácido cítrico nas mesmas concentrações do ácido ascórbico. Após determinar a melhor concentração de cada antioxidante individualmente, foi realizado um terceiro experimento;

Experimento 3 - Combinação de ambos antioxidantes nas proporções de 1:1 e 2:1 (AA:AC).

Os pedaços de mandioca minimamente processada foram imersos por 3 min conforme indicado por Viña e Chaves (2006), em solução a  $5 \pm 1$  °C. Cada tratamento constituiu-se de cinco repetições, com 10 pedaços de mandioca por repetição. O parâmetro considerado para definição do melhor tratamento foi o desenvolvimento da deterioração fisiológica pós-colheita (DFP), avaliado visualmente, considerando-se a presença ou ausência do sintoma.

As avaliações foram feitas a cada três dias por um período de 12 dias de conservação a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR.

A melhor concentração de cada antioxidante, juntamente com a combinação de ambos, na proporção mais indicada foi utilizada nos experimentos posteriores.

### **b) Avaliação da deterioração fisiológica pós-colheita**

A deterioração fisiológica pós-colheita (DFP) foi determinado por meio de

avaliação visual, levando-se em consideração a presença ou ausência do sintoma característico, estriamento ou pontuações concêntricas na superfície do corte transversal de coloração cinza-azulada no parênquima de reserva, que com o passar do tempo podem tornar-se pardas. Foi avaliado o início do estriamento, bem como a intensidade, conforme proposto por Campos e Carvalho (1992) com modificações.

### **2.2.3. Determinação do tempo de centrifugação**

Após o tratamento com antioxidantes, os pedaços de mandioca foram centrifugados em centrífuga de aço inox industrial “Hergus CT 10HL”, a 800 g. Os tempos de centrifugação testados foram de 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 seg. Essa etapa visou a retirada da água adsorvida durante as etapas de descasque, sanitização, enxágue e tratamento antioxidante. Os pedaços de mandioca do tempo de centrifugação zero seg, ou seja, não centrifugados, foram apenas drenados em uma peneira por 2 min. Os parâmetros avaliados para a determinação do tempo de centrifugação foram perda de massa da matéria fresca e atividade de água.

#### **a) Perda de massa fresca**

Durante a conservação, os pacotes de mandioca minimamente processada foram pesados aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de conservação a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR. A perda de massa fresca nas raízes foi determinada em relação à massa fresca dos pacotes no tempo zero, por gravimetria em balança de precisão.

$PMF = ((MFI - MFF) \times 100) / MFI$ , em que:

PMF = perda de massa fresca (%)

MFI = massa fresca inicial (g)

MFF = massa fresca final (g)

## **b) Atividade de água**

A atividade de água (Aa) foi determinada em dois momentos distintos. No experimento realizado para determinar o tempo de centrifugação e, em outro experimento realizado após definir a embalagem mais indicada, dentre as testadas, para mandioca minimamente processada. No primeiro caso a Aa foi determinada logo após o processamento mínimo. No segundo, os pedaços de mandioca minimamente processada foram acondicionados em embalagens de polipropileno, tomando-se amostras representativas aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de conservação a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR. A atividade de água foi determinada em higrômetro (Testo Mod. AG 650), realizadas em triplicata, tomando-se fatias dos pedaços de mandioca minimamente processada, adequadas ao tamanho da cubeta.

### **2.2.4. Avaliação da embalagem**

Amostras de aproximadamente 500 g de mandioca minimamente processada foram acondicionadas nas seguintes embalagens: sacos de polietileno de alta densidade (PEAD); de polipropileno (PP); de poliolefina multicamadas (PML) para vácuo e bandejas de poliestireno expandido (PS) revestidas com filme de poli (vinil cloreto) (PVC). As embalagens de PEAD e PP foram seladas a quente em seladora Tec Mac (Mod. AP450). As embalagens PML foram seladas em seladora Selovac (Mod. 200 B) e, as bandejas de PS revestidas com PVC seladas a quente na parte inferior da embalagem, em seladora Embalamack (Mod. 500). A caracterização dos filmes flexíveis das embalagens acima citadas foi realizada no Laboratório de Embalagens, no Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. As taxas de permeabilidade a gases e vapor d'água, bem como a espessura, foram determinadas segundo a metodologia descrita por Oliveira *et al.* (1996).

A definição da embalagem mais indicada para acondicionamento de mandioca minimamente processada foi realizada em função da perda de massa fresca, desenvolvimento de deterioração fisiológica pós-colheita (DFP), desenvolvimento de *Pseudomonas* sp., conforme descrito nos itens 2.2.3.a,

2.2.2.b e 2.2.1.b e, índice de escurecimento (IE). O produto embalado foi conservado sob refrigeração a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR, por um período de 12 dias, procedendo-se as análises dos parâmetros acima citados a cada 3 dias.

### **a) Índice de escurecimento**

O índice de escurecimento (IE) foi determinado por colorimetria, utilizando a escala de Hunter (CIELAB), tomando-se os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , com auxílio de um colorímetro portátil digital (Minolta Color Reader CR10), tomando-se três leituras em cada superfície do corte transversal dos pedaços de mandioca. As leituras foram feitas aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de conservação.

Os parâmetros obtidos  $a^*$ , que indica a cromaticidade no eixo da cor verde (-) para vermelha (+);  $b^*$ , que indica a cromaticidade no eixo da cor azul (-) para amarela (+);  $L^*$ , que indica a intensidade de luz de escuro (-) para claro (+), foram utilizados para o cálculo do índice de escurecimento (IE), segundo Palou *et al.* (1999), com a seguinte expressão:

$$IE = [100 (X - 0,31)] / 0,72$$

em que  $X = (a + 1,75 L) / (5,645L + a - 3,021b)$

### **2.3. Processamento mínimo**

O processamento mínimo consistiu das etapas de pré-lavagem, seleção, lavagem, descasque, corte, enxágue inicial, sanitização, enxágue final, centrifugação e embalagem. A temperatura do produto foi monitorada durante todas as etapas do processamento mínimo com um termômetro infravermelho digital (HANNA - Modelo HI 99551). A temperatura no ambiente de processamento foi de  $18 \pm 1$  °C na área limpa e, temperatura ambiente, em torno de 25 °C nas áreas suja e semi-limpa. Todos os utensílios e equipamentos utilizados durante as etapas de processamento mínimo foram previamente higienizados.

### **2.3.1. Pré-lavagem**

As raízes de mandioca foram pré-lavadas em água corrente, na parte externa da unidade de processamento mínimo, para remoção das sujidades mais grossas provenientes do campo.

### **2.3.2. Seleção**

As raízes de mandioca foram selecionadas quanto ao tamanho do diâmetro, de 4 a 8 cm, descartando-se as raízes deformadas, quebradas e que apresentassem ataque por patógenos e pragas.

### **2.3.3. Lavagem e pré-sanitização**

As raízes selecionadas foram novamente lavadas em água corrente com o auxílio de uma escova para a eliminação de sujidades mais finas aderidas nas raízes e de difícil remoção devido às características de rugosidade da casca. Em seguida, as raízes foram imersas em uma solução com 200 mg.L<sup>-1</sup> de cloro ativo. O sanitizante utilizado tem como princípio ativo o dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>) a 3 %.

### **2.3.4. Corte dos toletes, descasque e fracionamento**

A mandioca foi cortada em toletes de aproximadamente 5 cm de comprimento com auxílio de uma lâmina de metal. Os toletes sofreram um corte longitudinal no córtex, suficiente apenas para romper a casca. Imediatamente, os toletes foram colocados em água resfriada a  $5 \pm 1$  °C e, em seguida, descascados manualmente com o auxílio de uma faca. Os toletes foram fracionados ao meio no sentido longitudinal, optou-se por esse tipo de corte em função de uma rachadura que ocorre naturalmente quando os toletes são descascados. Em seguida, os pedaços de mandioca foram acondicionados em sacos de náilon (utilizados para lavagem de roupas delicadas) para facilitar a manipulação durante as etapas seguintes.

### **2.3.5. Enxágue inicial**

Após acondicionamento nos sacos de náilon, os pedaços de mandioca foram mergulhados em água resfriada a  $5 \pm 1$  °C, para remoção do exsudato proveniente do corte dos tecidos vegetais, visando diminuir a quantidade de matéria orgânica que poderia reagir com o cloro, afetando assim, a concentração de cloro livre durante a sanitização.

### **2.3.6. Sanitização**

O sanitizante utilizado foi o dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>), na concentração de  $200 \text{ mg.L}^{-1}$ , conforme definido no item 2.2.1. Os pedaços de mandioca acondicionados nos sacos de náilon foram imersos em água gelada a  $5 \pm 1$ °C por 10 min, contendo  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  de cloro ativo. Cada tratamento constituiu-se de cinco repetições, com 10 pedaços de mandioca por repetição.

### **2.3.7. Enxágue final**

Os pedaços de mandioca acondicionados em sacos de náilon após a sanitização com dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>), foram enxaguados com água clorada ( $3 \text{ mg.L}^{-1}$  de cloro ativo), em torno de  $5 \pm 1$  °C por 5 min para remoção do excesso de sanitizante.

### **2.3.8. Tratamento antioxidante**

Durante a etapa anterior, enxágue final, os pedaços de mandioca acondicionados em sacos de náilon, foram tratados com ácido ascórbico (3 %) e ácido cítrico (3 %), na proporção de 2:1, em água gelada a  $5 \pm 1$ °C por 3 min, conforme definido no item 2.2.2.

### **2.3.9. Centrifugação**

Após o tratamento com antioxidantes, os pedaços de mandioca acondicionados em sacos de náilon, foram centrifugados em centrífuga de aço inox industrial “Hergus CT 10HL”, a 800 g por 30 s, conforme definido no item 2.2.3.

Após a centrifugação os pedaços de mandioca foram colocados em bandejas de plástico para posterior acondicionamento em embalagens pré-definidas.

### **2.4. Acondicionamento**

Amostras de aproximadamente 500 g de mandioca minimamente processada foram acondicionadas em embalagem de polipropileno (PP), conforme definido no item 2.2.4, nas dimensões de 18x25 cm de largura e comprimento, respectivamente. As embalagens foram seladas a quente, com auxílio de uma seladora Tec Mac (modelo AP450).

### **2.5. Conservação**

A conservação foi realizada sob refrigeração durante um período de 12 dias. A temperatura e a umidade relativa foram de  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR, respectivamente. Normalmente, a temperatura indicada para conservação de produtos minimamente processados é de 0 a 5 °C (Cantwell, 2000). Porém, optou-se pela temperatura de  $8 \pm 2$  °C por estar mais próxima da temperatura utilizada nas gôndolas do comércio varejista. Dessa forma, o comportamento da mandioca minimamente processada durante a conservação, estaria de acordo com a realidade durante a comercialização.

### **2.6. Rendimento**

O rendimento (R) foi quantificado pela razão entre as massas da matéria fresca do produto minimamente processado e da matéria-prima e expresso em

porcentagem.

$$R = (\text{massa do produto processado} / \text{massa da matéria-prima})$$

## **2.7. Análise estatística**

Após análise de variância (ANOVA), os dados foram expressos como médias e comparadas pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software SAEG 5, da Central de Processamento de Dados da UFV.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1.1. Sanitização

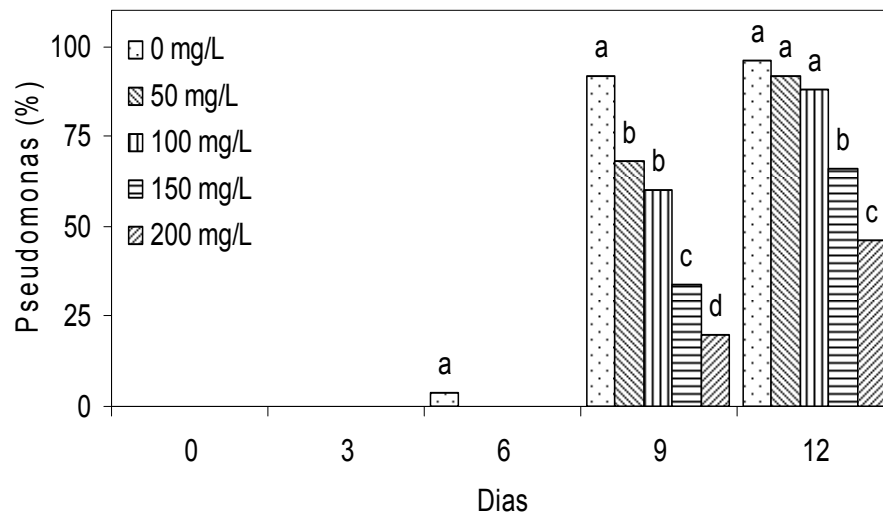
Experimento1:

O uso de dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>) mostrou-se eficiente no controle do desenvolvimento de microorganismos nos pedaços de mandioca minimamente processada até o sexto dia, para as concentrações de 50, 100, 150 e 200 mg.L<sup>-1</sup>, (Figura 1). No tratamento controle, aos seis dias já se observou alguns pedaços de mandioca minimamente processada com sintomas característicos de *Pseudomonas* sp., manchas amarelo-esverdeadas na superfície dos pedaços de mandioca, isso pode ser devido à permeabilidade da embalagem de polietileno de alta densidade (PEAD) utilizada para acondicionar o material, proporcionando uma atmosfera interna com níveis mais altos de oxigênio. Segundo Bracket (1989) esse patógeno é um psicrotrófico aeróbio com desenvolvimento lento, levando em torno de oito a nove dias para desenvolver os sintomas.

Após seis dias de conservação, pode-se notar os sintomas em todos os tratamentos em porcentagens mais elevadas nas concentrações menores que 100 mg.L<sup>-1</sup> de dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada. Aos nove dias, o desenvolvimento de *Pseudomonas* sp., mesmo apresentando valores em torno de 60 %, para as concentrações de 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>, ainda diferiu do tratamento controle, sem sanitizante. Nas concentrações de 150 e 200 mg. L<sup>-1</sup>, a incidência foi abaixo de 35 %.

Aos 12 dias de conservação nas concentrações de 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>, a quantidade de pedaços de mandioca com sintomas não diferiu do controle, sem sanitizante, ficando em torno de 50 % a mais em relação ao tratamento com 200 mg.L<sup>-1</sup>. Nesse período, a concentração de 200 mg.L<sup>-1</sup> foi a que obteve a menor incidência de *Pseudomonas* sp.. No entanto, não se pode afirmar que o controle

tenha sido efetivo devido à alta porcentagem de pedaços com sintomas, ou seja, 46 %. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Lund *et al.* (2005) estudando o uso de sanitizantes para mandioca minimamente processada, concluíram que o dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada nas concentrações de 100 e 200 mg.L<sup>-1</sup> não foram eficientes na redução da carga microbiana, considerando que a redução de aproximadamente 50 % é insatisfatória. Porém, Silva *et al.* (2003) afirmam que a concentração de 200 mg.L<sup>-1</sup> de cloro foi eficiente no controle de fungos e bactérias psicrotóxicas em mandioca, cv. Cacau, minimamente processada e conservada a 10 °C. Também, Oliveira *et al.* (2003) mostraram que a sanitização com 200 mg.L<sup>-1</sup> de cloro foi mais eficiente no controle de microorganismos em mandioca minimamente processada da cv. IAC 576-70.



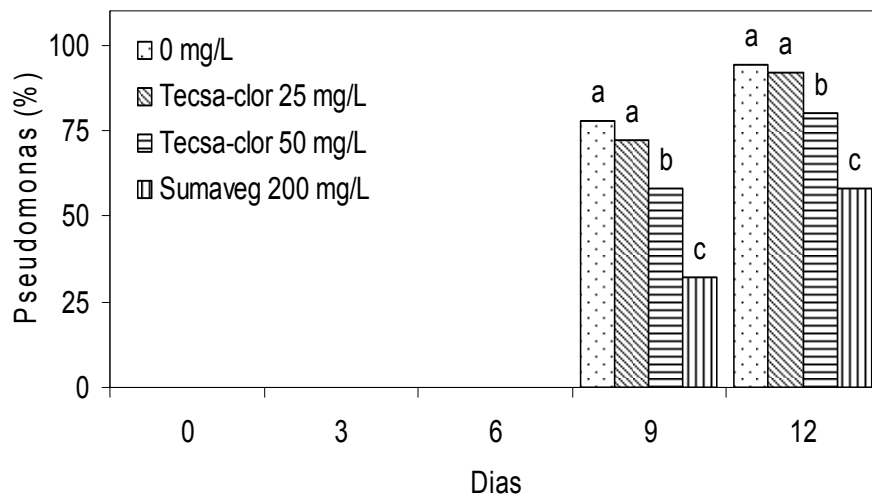
**Figura 1.** Incidência de *Pseudomonas* sp. (%), em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, sanitizadas com dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>), embalada em polietileno de alta densidade e conservada a 8 ± 2 °C e 90 ± 5 % UR por 12 dias.

#### Experimento 2:

Os resultados com os sanitizantes dióxido de cloro (Tecsa Clor<sup>®</sup>) e dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>), (Figura 2). Até o sexto dia em todos os tratamentos não foram observados sintomas de *Pseudomonas* sp..

Aos nove dias de conservação o tratamento com 25 mg.L<sup>-1</sup> não diferiu do

controle, apresentando acima de 70 % dos pedaços com sintoma de *Pseudomonas* sp.. Ressalta-se que, essa era a concentração recomendada pelo fabricante para uso em vegetais. O dobro da dose recomendada, 50 mg.L<sup>-1</sup>, também foi testada e, não se mostrou eficiente no controle desse patógeno, com aproximadamente 60 % de incidência, durante esse período.



**Figura 2.** Incidência de *Pseudomonas* sp. (%), em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, sanitizadas com dióxido de cloro (Tecsaclor<sup>®</sup>) e dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>), embalada em polietileno de alta densidade e conservada a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

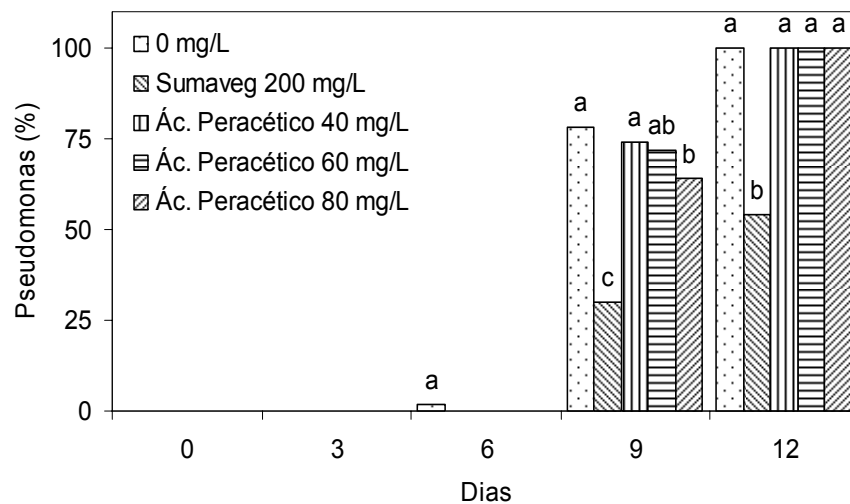
Aos 12 dias de conservação o tratamento com dióxido de cloro com 25 e 50 mg.L<sup>-1</sup>, apresentaram 92 e 80 % dos pedaços de mandioca com *Pseudomonas* sp., contra 58 % no tratamento com dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada na concentração 200 mg.L<sup>-1</sup>. Esse tratamento foi o que resultou em menor desenvolvimento de *Pseudomonas* sp., aproximadamente 50 %, nos pedaços de mandioca minimamente processada.

Os resultados com o dióxido de cloro (Tecsaclor<sup>®</sup>) diferem dos apresentados pelo fabricante (Serquimico, 2009), para vários produtos vegetais, nos quais ele afirma que esse sanitizante na concentração de 25 mg.L<sup>-1</sup> controla o desenvolvimento de muitos microorganismos sem deixar nenhum tipo de resíduo e por esse motivo pode ser utilizado para processamento de produtos

orgânicos. No caso de mandioca, nem o dobro da dose mostrou-se eficiente.

### Experimento 3:

Aos seis dias de conservação apenas os tratamentos com dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada e ácido peracético nas concentrações de 200 e 80 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente, não apresentaram nenhum sintoma de *Pseudomonas* sp. (Figura 3). Os tratamentos com ácido peracético na concentração de 40 e 60 mg.L<sup>-1</sup> não diferiram do tratamento controle, apresentando em torno 5 % dos pedaços de mandioca com sintomas.



**Figura 3.** Incidência de *Pseudomonas* sp. (%), em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, sanitizadas com dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg®) e ácido peracético, embalada em polietileno de alta densidade e conservada a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

Aos nove dias de conservação, os sintomas de *Pseudomonas* sp. foram observados em todos os tratamentos, sendo que o tratamento com 200 mg.L<sup>-1</sup> de dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada foi o mais eficiente com redução de 50 % dos sintomas em relação ao controle. O ácido peracético nas concentrações de 40 e 60 mg.L<sup>-1</sup>, mostrou comportamento similar ao tratamento controle, com mais de 70 % dos pedaços de mandioca com sintoma. A concentração de 80 mg.L<sup>-1</sup>, também apresentou alta incidência de *Pseudomonas* sp., acima de 60 %.

Aos 12 dias de conservação, todos os tratamentos com ácido peracético apresentaram 100 % dos pedaços de mandioca com sintoma de *Pseudomonas* sp.. O tratamento com dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg®), 200 mg.L<sup>-1</sup>, mostrou redução de aproximadamente 40 % em relação aos demais tratamentos.

De maneira geral o ácido peracético não demonstrou eficiência no controle de *Pseudomonas* sp. em mandioca minimamente processada, pelo menos nas concentrações avaliadas. Ruiz-Cruz *et al.* (2007) também observaram que o ácido peracético na concentração de 40 mg.L<sup>-1</sup>, foi menos efetivo que o (Sumaveg®) a 200 mg.L<sup>-1</sup> no controle de patógenos em cenoura fatiada minimamente processada.

Considerando os resultados obtidos com sanitizantes, nenhum dos tratamentos aplicados foi efetivo no controle de *Pseudomonas* sp. após o sexto dia de conservação. Nos três experimentos, a incidência de *Pseudomonas* sp. foi acima de 45 % no final do período de conservação. A utilização de concentrações maiores não seria recomendável, pois o cloro acima 200 mg.L<sup>-1</sup>, pode deixar gostos e odores indesejáveis no produto minimamente processado (Cantwell, 1992).

A eficiência do cloro no controle de microorganismos está relacionada com a presença de matéria orgânica e com o pH da solução sanitizante (Vanetti, 2007). A ação do hipoclorito de sódio deve-se essencialmente à liberação de cloro ativo. O mecanismo de ação consiste na inibição da reação enzimática no interior da célula e produz desnaturação e inativação do ácido nucleico (Motta, 2009). O termo cloro ativo ou livre descreve a quantidade de cloro, na forma de ácido hipocloroso, disponível para reações oxidativas e desinfecção. O pH da solução é de grande importância para sua eficácia. Apesar da concentração de ácido hipocloroso ser maior em pH 6,0, a melhor combinação de atividade e estabilidade é alcançada na faixa de pH 6,5 - 7,5 (Suslow, 1997 citado por Moraes, 2005 ).

Nos experimentos supracitados, o pH das soluções sanitizantes foi determinado e permaneceu entre 6 e 7, dentro da faixa recomendada de 5,5 a 7 para frutas e hortaliças frescas (Vanetti, 2000; Oliveira *et al.*, 2003). O dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada apresenta melhor atividade em pH 5,5 a 7,5

(Suma, 2009). A ineficiência dos tratamentos à base de cloro pode estar relacionada à presença de matéria orgânica na solução sanitizante, reduzindo assim, a concentração de cloro livre, embora grande parte dos exsudados celulares tenha sido removida nas etapas de descasque em água e enxágue inicial do processamento mínimo.

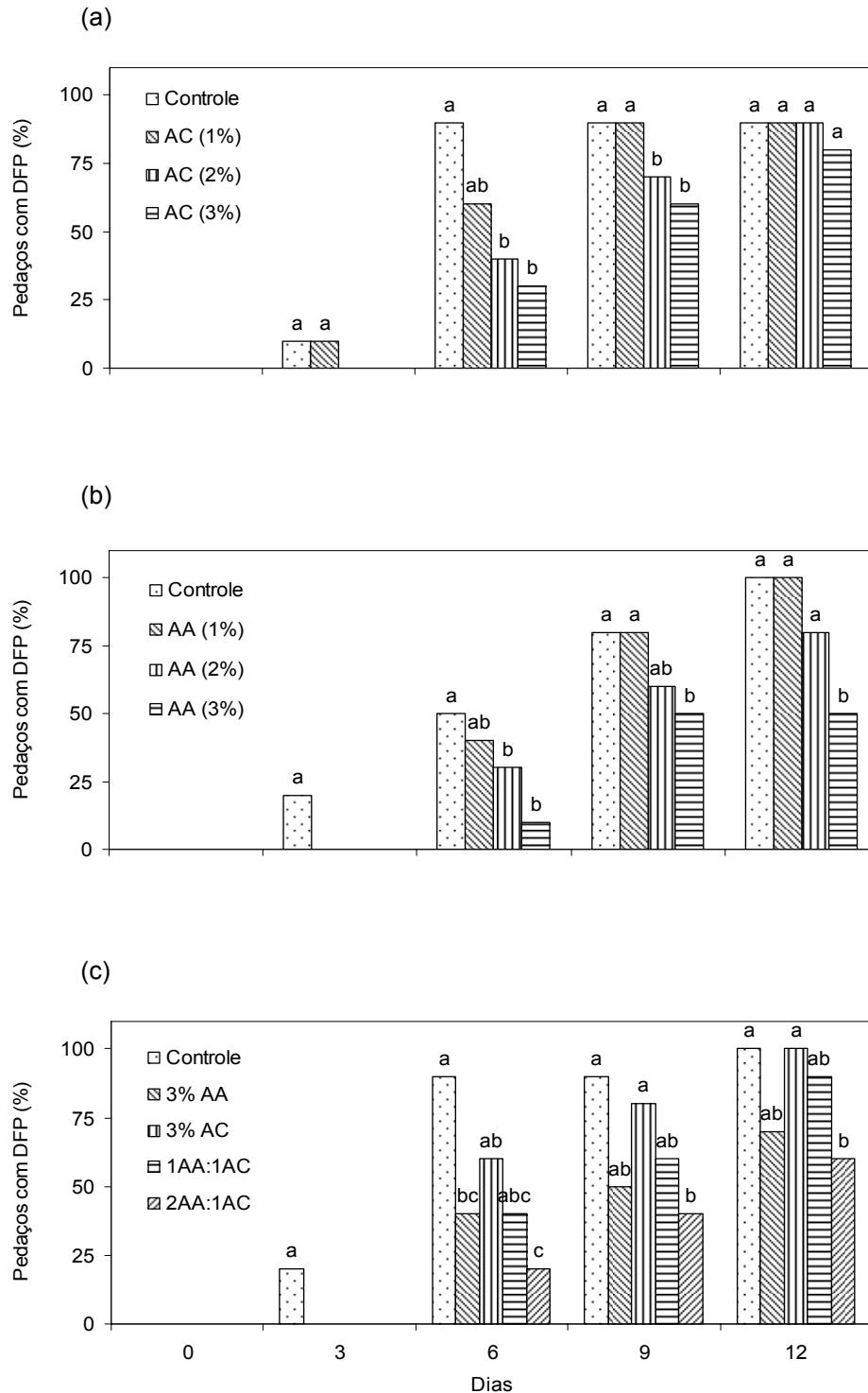
Segundo Vanetti (2000) a redução da carga microbiana em mandioca minimamente processada torna-se difícil pelo fato das raízes estarem em contato direto com o solo e, este ser uma fonte rica em microorganismos. Assim sendo, a concentração de 200 mg.L<sup>-1</sup> de dicloro s-triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>), foi a escolhida para sanitização de mandioca para experimentos posteriores.

### **3.1.2. Tratamento antioxidante**

Os resultados referentes ao desenvolvimento de deterioração fisiológica pós-colheita (DFP) em pedaços de mandioca minimamente processados e tratados com ácido cítrico (AC), para definição da melhor concentração do antioxidante no controle da DFP, são apresentados na Figura 4.

A deterioração fisiológica pós-colheita começou a se manifestar no terceiro dia, em todos os tratamentos e o seu aumento foi notado com o decorrer do tempo de conservação.

Aos três dias de conservação, o tratamento com 1 % de AC comportou-se igual ao controle, com incidência de 10 % de DFP (Figura 4a). Os demais tratamentos não mostraram pedaços de mandioca com sintomas. Aos seis dias de conservação, os pedaços de mandioca minimamente processados sem tratamento com antioxidante já apresentavam 90 % de DFP. O AC na concentração de 1 %, mesmo com 30 % menos de pedaços com sintomas, não apresentou diferença em relação ao controle. As concentrações de 2 e 3 %, mostraram diferença em relação ao controle, apresentando 40 e 30 % dos pedaços com sintomas, respectivamente.



**Figura 4.** Incidência de deterioração fisiológica pós-colheita (DFP) (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, em função da concentração de: (a) ácido cítrico (AC), (b) ácido ascórbico (AA) e (c) combinação de ambos (AA+AC), embalada em polietileno de alta densidade e conservada a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

No nono dia, a incidência de DFP apresentou aumento considerável. Nos tratamentos com 1, 2 e 3 % de ácido cítrico, mais de 60 % dos pedaços de mandioca estavam com a presença do sintoma de deterioração fisiológica pós-colheita.

Aos 12 dias de conservação, nenhum tratamento apresentou diferença em relação ao controle, a incidência de DFP ficou em 90 % para os tratamentos controle, 1 e 2 % de AC e, o tratamento com 3 % AC apresentou 80 % dos pedaços com sintomas de DFP.

Os pedaços de mandioca tratados com 3 % de AC apresentaram as menores porcentagens de DFP em todos os tempos de avaliação. Porém, esses valores não foram satisfatórios no controle do desenvolvimento da DFP, após seis dias de conservação.

Mujica *et al.* (2007) verificaram que o tratamento com ácido cítrico 0,9 % foi eficiente no controle do escurecimento em mandioca minimamente processada por um período de cinco dias. Segundo, Araújo (1990) o ácido cítrico é utilizado no controle do escurecimento enzimático de frutas e hortaliças minimamente processadas por causa do seu efeito no abaixamento do pH na superfície cortada dos produtos, diminuindo a atividade da polifenoloxidase. Assim sendo, a concentração de 3 % de ácido cítrico foi a escolhida para experimentos posteriores.

Em relação ao ácido ascórbico (AA), o sintoma de DFP iniciou aos seis dias de armazenamento (Figura 4b). A incidência de DFP aumentou ao longo do período de conservação, porém esse aumento foi inversamente proporcional ao aumento da concentração de ácido ascórbico.

Aos três dias de conservação, o tratamento controle apresentou pedaços de mandioca com 20 % de sintoma de DFP, nos demais tratamentos nenhum sintoma foi observado.

No sexto dia de conservação, todos os tratamentos apresentaram menos de 50 % dos pedaços com DFP, com redução de 10, 20 e 40 % em relação ao controle, nas concentrações de 1, 2 e 3 %, respectivamente. O tratamento com 1 % de AA não diferiu do controle.

Aos nove dias de conservação, não houve diferença entre o controle e a concentração de 1 %, enquanto as concentrações de 2 e 3 % de AA,

apresentaram em torno de 50 % de DFP. Nessa avaliação o tratamento a 3 % de AA mostrou uma redução de 30 % em relação ao controle, o qual apresentou 80 % de incidência de DFP.

Aos 12 dias de conservação o efeito do ácido ascórbico, como antioxidante, foi visivelmente marcante, ou seja, a diferença entre a concentração de 3 % e o controle permaneceu em 50 %. Os tratamentos com 1 e 2 % não diferiram do controle, apresentando acima de 80 % dos pedaços de mandioca com DFP.

No terceiro experimento, para determinar a melhor proporção da mistura dos antioxidantes, os sintomas começaram a aparecer no terceiro dia apenas no tratamento controle (Figura 4c).

Na avaliação aos seis dias, a proporção de 1AA:1AC não apresentou diferença em relação aos tratamentos com AA e AC individuais. A proporção de 2AA:1AC apresentou menor porcentagem de pedaços de mandioca com sintomas de DFP que os demais tratamentos, em torno de 20 %.

Aos nove dias de conservação, no tratamento 2AA:1AC foi observada diferença de 50 % em relação ao controle, sendo que esse tratamento não diferiu dos tratamentos com AA individualmente e da proporção 1AA:1AC. A proporção 1AA:1AC ficou 20 % abaixo do AC sozinho, porém 10 % acima do AA individual. A diferença de 20 % entre as duas proporções, 2AA:1AC e 1AA:1AC, não foi significativa.

No décimo segundo dia de conservação, a proporção 1AA:1AC apresentou redução de 10 % em relação ao controle e ao tratamento com AC sozinho. O tratamento com AC sozinho não diferiu do controle. A proporção 2AA:1AC, apresentou redução de 40 % no desenvolvimento de DFP quando comparada aos tratamentos controle e AC individual e, redução de 30 e 20 % em relação aos tratamentos 1AA:1AC e AA aplicado individualmente.

O tratamento com a proporção 2AA:1AC foi o que proporcionou menor incidência de DFP durante o período de conservação estudado, com resultados satisfatórios até seis dias. Chitarra e Chitarra (2007) relatam o efeito sinérgico do ácido ascórbico com o ácido cítrico na prevenção do escurecimento enzimático pela ação da polifenoloxidase (PPO) e da peroxidase (POD), em alface minimamente processada. Gómez-López (2002) reporta que o uso de ácido

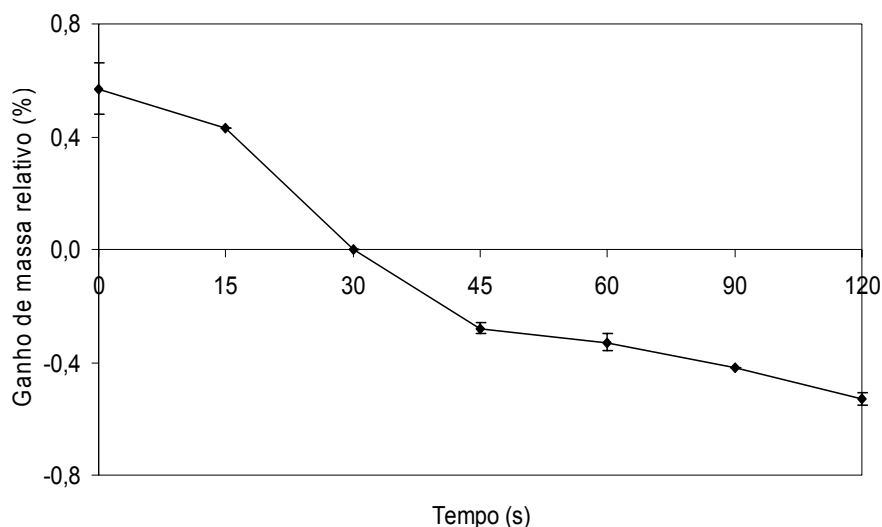
cítrico (1 %) e ácido ascórbico (1 %), na proporção de 1:1, inibiu o escurecimento na superfície cortada de abacate por 15 dias a 7 °C.

Batatas minimamente processadas e tratadas com ácido cítrico (2 %) e ácido eritórbico (3 %) individualmente, apresentaram aumento da POD até o sexto dia de armazenagem, com posterior redução, quando foi utilizada a combinação dos dois a atividade da POD foi controlada já no terceiro dia (Pineli *et al.*, 2005a).

Com base nesses resultados, a proporção de 2AC:1AA foi a que melhor controlou a DFP, apresentando nos tempos de avaliação 0, 3, 6, 9 e 12 dias, os menores percentuais de incidência da deterioração.

### 3.1.3. Tempo de centrifugação

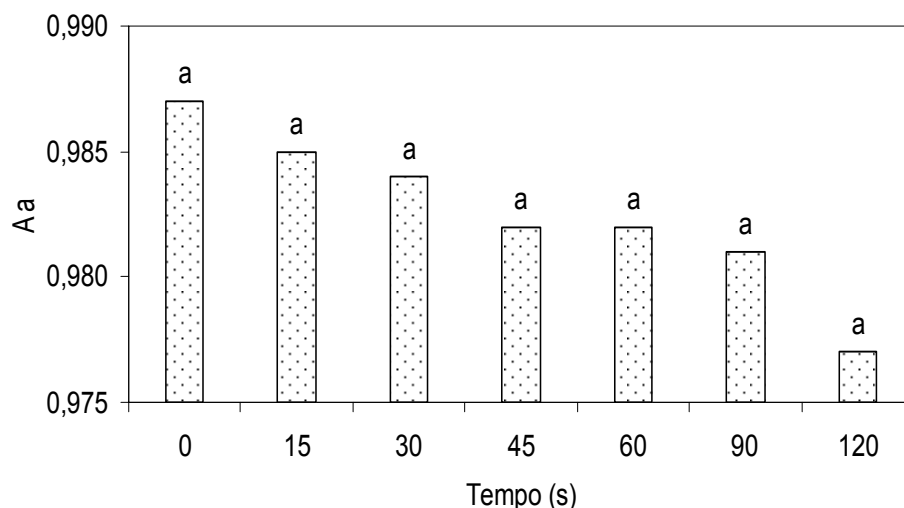
Os resultados sobre as alterações de massa relativa durante a etapa de sanitização estão na Figura 5. Pode-se notar que os tempos de centrifugação inferiores a 30 seg não foram suficientes para retirar toda a água adsorvida pelo tecido vegetal durante a sanitização, isso pode acarretar maior desenvolvimento de microorganismo proporcionado pela umidade mais alta no interior das embalagens com mandioca minimamente processada.



**Figura 5.** Ganho de massa relativo (%) em função do tempo de centrifugação para mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha. As barras representam o erro padrão da média.

Nos tempos superiores a 30 seg ocorreu a retirada da água adsorvida e, também, da água do interior do tecido vegetal, o que pode promover estresse hídrico nos tecidos e como consequência, no caso da mandioca, favorecer o desenvolvimento da deterioração fisiológica pós-colheita (DFP). Rickard (1985) diz que a perda de umidade pelas raízes é uma das principais causas promotoras de deterioração fisiológica pós-colheita em mandioca. Campos e Carvalho (1992) afirmaram que a baixa umidade das raízes promoveu o desenvolvimento de DFP durante o período de armazenamento de mandioca. A retirada excessiva de água pode influenciar na aparência do produto, deixando-o com aspecto ressecado, além de afetar o seu peso final.

Observando os valores da atividade de água (Aa) determinados em função do tempo de centrifugação (Figura 6), pode-se notar que os valores variaram entre 0,98 para os pedaços de mandioca centrifugados por 120 s e 0,99 para os pedaços não centrifugados. Esses valores são considerados altos, levando-se em conta que a Aa varia entre 0 e 1 (Stencl *et al.* 1999). Isso significa que a mandioca logo após o seu processamento apresenta muita água livre, a qual pode propiciar o desenvolvimento de microorganismos. Segundo o Instituto Adolfo Lutz (1985) os alimentos de baixa Aa, menos que 0,60, são microbiologicamente estáveis.



**Figura 6.** Atividade de água (Aa) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, determinada em função dos tempos de centrifugação após o processamento mínimo.

De acordo com Stencl *et al.* (1999) os produtos agrícolas durante o processamento e armazenamento, podem sofrer mudanças físicas, químicas e microbiológicas, sendo essas mudanças particularmente influenciadas pela umidade, atividade de água e temperatura de armazenamento. A atividade de água de um alimento, ao contrário da umidade, é considerada como um dos parâmetros que indica a disponibilidade de água existente para o crescimento de microrganismos deteriorantes ou não, como também para a ocorrência de outras reações tais como, oxidação, hidrólise e escurecimento enzimático (Vitalli, 1987; Diniz *et al.*, 2003).

### 3.1.4. Avaliação das embalagens utilizadas para acondicionamento de mandioca minimamente processada

As características de cada embalagem quanto à espessura e permeabilidade a gases e vapor d'água estão na Tabela 1.

**Tabela 1.** Caracterização das embalagens plásticas flexíveis, avaliadas para mandioca minimamente processada, 10 °C e 90% UR. Viçosa, MG, 2008.

Embalagem	Espessura ( $\mu\text{m}$ )	Taxa de Permeabilidade	
		Vapor d'água ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$ )	Oxigênio ( $\text{cm}^3\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$ )
Polietileno de alta densidade - PEAD	10	28,96	41.120,03
Polipropileno – PP	20	2,90	5.085,92
Polioléfina Multicamadas - PLM	70	3,63	0,16
Poli (vinil cloreto) – PVC	16	111,56	8,57

De acordo com os dados determinados, a embalagem com maior barreira ao vapor d'água é a de polipropileno (PP), seguida por multicamadas (PLM), polietileno de alta densidade (PEAD) e poli (vinil cloreto) (PVC). Quanto à taxa de permeabilidade ao oxigênio ( $\text{O}_2$ ), a melhor barreira é a multicamadas (PLM),

seguida por poli (vinil cloreto) (PVC), polipropileno (PP) e polietileno de alta densidade (PEAD).

Os dados referentes à taxa de permeabilidade dos filmes flexíveis ao dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), não foram considerados por que não refletiam as características reais de cada filme, isso foi devido a problemas no aparelho analisador de gases, pois a composição da atmosfera do ambiente pode ter afetado o equipamento e interferido nos resultados.

#### **a) Perda de massa fresca**

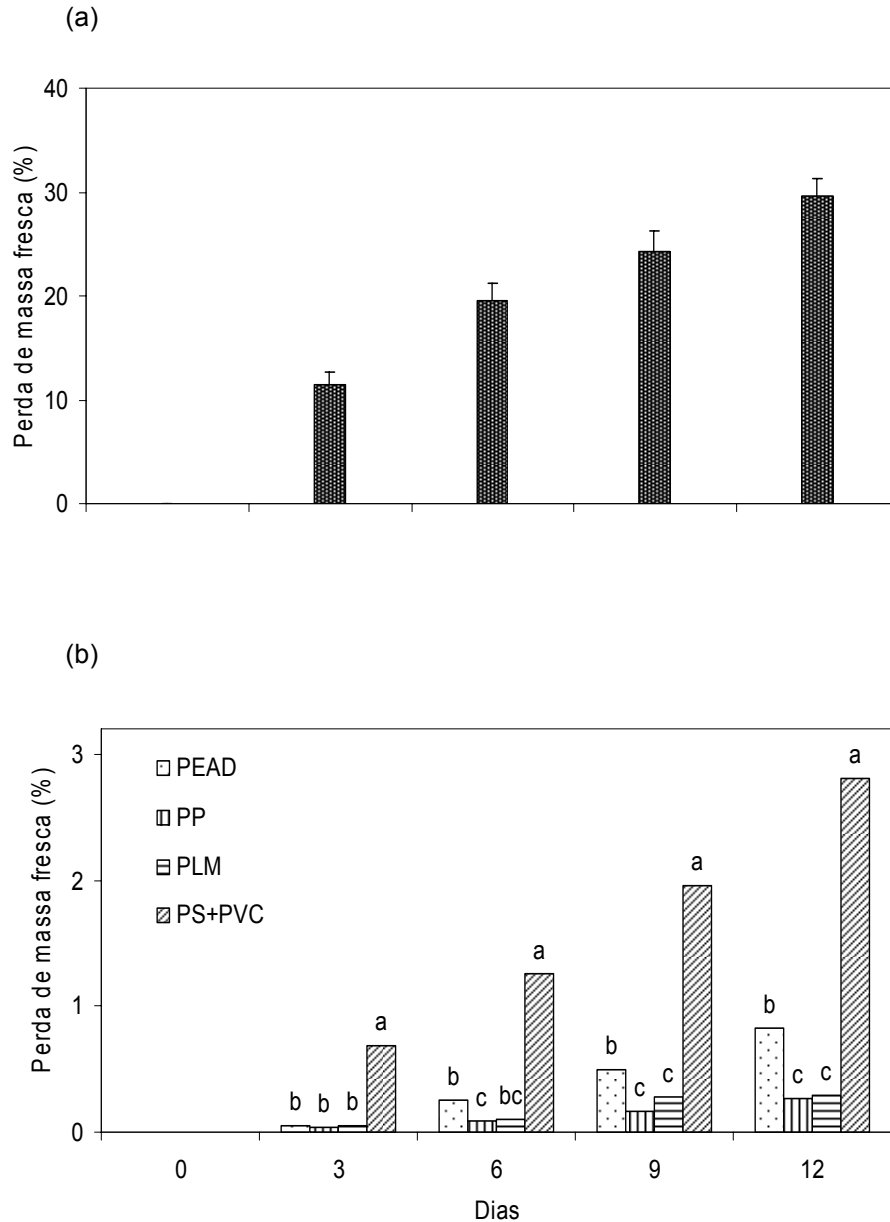
A mandioca minimamente processada sem embalar teve perda de massa de aproximadamente 30 % (Figura 7a). A perda de massa dos pedaços de mandioca, nas embalagens testadas, variou entre 0 e 2,8 % durante todo o período de conservação. Segundo Chitarra e Chitarra (2007) perdas de até 3 % são aceitáveis, valores acima disso deixam o produto com aspecto murcho ou ressecado, interferindo na qualidade visual e, conseqüentemente sua rejeição pelo consumidor.

Segundo Soares e Geraldine (2007) a taxa de permeabilidade ao vapor d'água da embalagem deve ser tal que não cause a desidratação superficial e, conseqüentemente, o murchamento do produto e, nem propicie deterioração microbiana.

A mandioca minimamente processada embalada com polipropileno (PP), foi a que proporcionou a menor perda de massa fresca, 0,26 %. Comparando-se a mandioca embalada e a sem embalagem, a redução foi de aproximadamente 100, 100, 36 e 10 vezes para as embalagens de polipropileno (PP), poliolefina multicamadas (PLM), polietileno de alta densidade (PEAD) e poliestireno expandido envolto em filme flexível de poli (vinil cloreto) (PS+PVC), respectivamente. Analisando esses valores pode-se notar que a função de barreira ao vapor d'água é de fundamental importância na escolha de uma embalagem adequada para produtos minimamente processados.

Os pedaços de mandioca embalados em PEAD apresentaram redução de 70 % na perda de massa fresca somente em relação aos embalados em PS+PVC. A embalagem de PLM foi a que proporcionou menor perda de massa

fresca, com diferença de 65 e 90% em relação às embalagens de PEAD e PS+PVC, respectivamente.



**Figura 7.** Perda de massa fresca (MF) (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, (a) sem embalagem e (b) embalada em polietileno de alta densidade (PEAD), polipropileno (PP), poliolefina multicamadas (PLM) e poliestireno mais poli (vinil cloreto) (PS+PVC) e, conservada a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias. As barras representam o erro padrão da média.

A mandioca minimamente processada embalada com poliestireno (PS) e

coberta com poli (vinil cloreto) foi a que apresentou maior perda de massa fresca, em torno de 10 % quando comparada com a mandioca sem embalar e, 90 % quando comparada com as embalagens com maior barreira ao vapor d'água PP e PLM. A embalagem de PP comparada às demais embalagens utilizadas apresentou redução na perda de massa fresca de 70, 10 e 90 %, em relação à embalagem de PEAD, PLM e PS+PVC, respectivamente.

Os resultados encontrados comportaram-se de acordo com as características determinadas para as embalagens utilizadas, conforme Tabela 1. Assim sendo, a embalagem de polipropileno (PP) apresentou valores semelhantes à poliolefina multicamadas (PLM) no controle da perda de massa fresca, pois em todos os tempos de avaliação não houve diferenças entre elas. Essas embalagens também foram as que o produto apresentou melhor aparência.

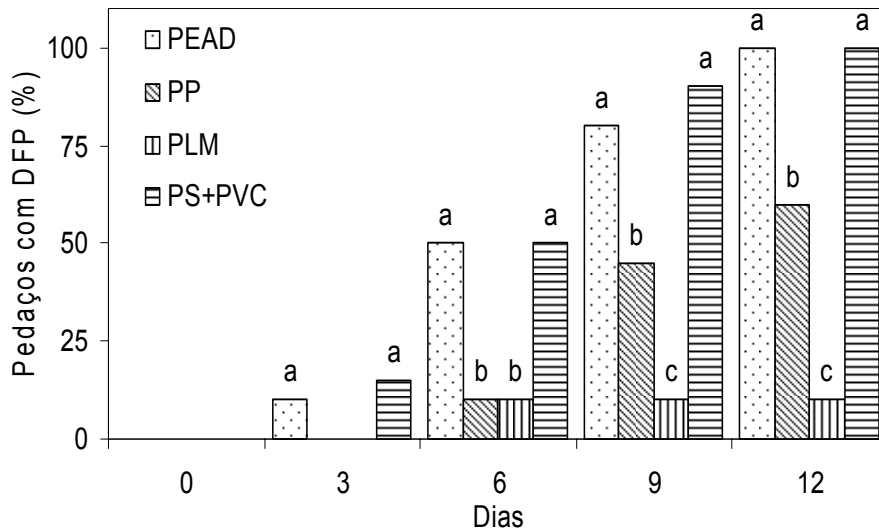
A embalagem de PS+PVC foi a que apresentou maior perda de massa, em todos os tempos de avaliação. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Geraldine (2000), para alho minimamente processado, onde a perda de massa foi de quase 15 % quando utilizou bandeja de PS revestida com filmes de PVC. Alves *et al.* (2005) avaliaram o efeito da embalagem sobre a perda de massa em mandioca minimamente processada e, verificaram que a bandeja de poliestireno revestida com PVC foi a que apresentou maior perda de massa, demonstrando que essa embalagem não possui boa barreira ao vapor de água. Segundo Carvalho *et al.* (1982) o teor de água nas raízes de mandioca é fundamental na conservação das mesmas, pois cultivares resistentes a deterioração fisiológica pós-colheita apresentam maiores teores de umidade.

## **b) Desenvolvimento de deterioração fisiológica pós-colheita**

O desenvolvimento de deterioração fisiológica pós-colheita (DFP) em pedaços de mandioca minimamente processada, em função do tipo de embalagem, começou a ser notada a partir do terceiro dia de conservação (Figura 8).

Na avaliação feita aos três dias de conservação os pedaços de mandioca acondicionados nas embalagens de PEAD e PS+PVC apresentaram 10 e 15 %

de incidência de DFP, respectivamente. Aos seis dias de conservação os pedaços de mandioca acondicionados em PP apresentaram comportamento similar aos embalados em PLM, sob vácuo, com redução nos sintomas de 80 % em relação às embalagens de PEAD e PS+PVC, as quais apresentaram 50 % dos pedaços com sintoma de DFP.



**Figura 8.** incidência de deterioração fisiológica pós-colheita (DFP) (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, embalada em polietileno de alta densidade (PEAD), polipropileno (PP), poliolefina multicamadas (PLM) e poliestireno mais poli (vinil cloreto) (PS+PVC) e, conservada a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

Aos nove dias de conservação a incidência de DFP nos pedaços de mandioca acondicionados nas embalagens de PP e PLM foram de 45 e 10 %, respectivamente, contra 80 % na embalagem de PEAD e 90 % na embalagem de PS+PVC. As embalagens de PEAD e PS+PVC não apresentaram diferença entre si.

Aos doze dias, houve aumento da incidência de DFP nos pedaços em todas as embalagens, sendo que nas de PEAD e PS+PVC chegou a 100 % dos pedaços. A embalagem de PP apresentou diferença de 60 % na incidência de DFP e, a PLM permaneceu sem alteração nos pedaços com sintoma de DFP.

A maior incidência de DFP na embalagem de PEAD pode ser atribuída a

sua alta taxa de permeabilidade ao oxigênio, pois a DFP é um escurecimento de natureza enzimática, que ocorre devido à atuação de enzimas oxidativas, como polifenoloxidasas, as quais têm sua atividade aumentada na presença de oxigênio (Tanaka *et al.*, 1983; Uritani, 1999). Isso pode ser comprovado, comparando-se com a de PLM, em que a incidência foi apenas de 10 %, em função do vácuo aplicado.

A alta incidência de DFP na mandioca embalada em PS+PVC, pode ser explicada pela alta taxa de permeabilidade ao vapor d'água, mesmo com baixa taxa de permeabilidade ao oxigênio. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Alves *et al.* (2005) que após sete dias de conservação a mandioca minimamente processada não apresentava mais condições de avaliação, devido à alta incidência de DFP, enquanto que no acondicionamento em polietileno e sob vácuo, o desenvolvimento de DFP começou a surgir a partir dos nove e 24 dias, respectivamente. A perda de água promove o desenvolvimento de DFP, pois o estresse hídrico promove a síntese de etileno e, este por sua vez aumenta a atividade da fenilalanina amônia liase. Essa enzima é considerada a enzima chave no metabolismo de compostos fenólicos, os quais são utilizados como substrato pela polifenoloxidase, promovendo assim, o escurecimento do tecido vegetal (Ke e Saltveit, 1989).

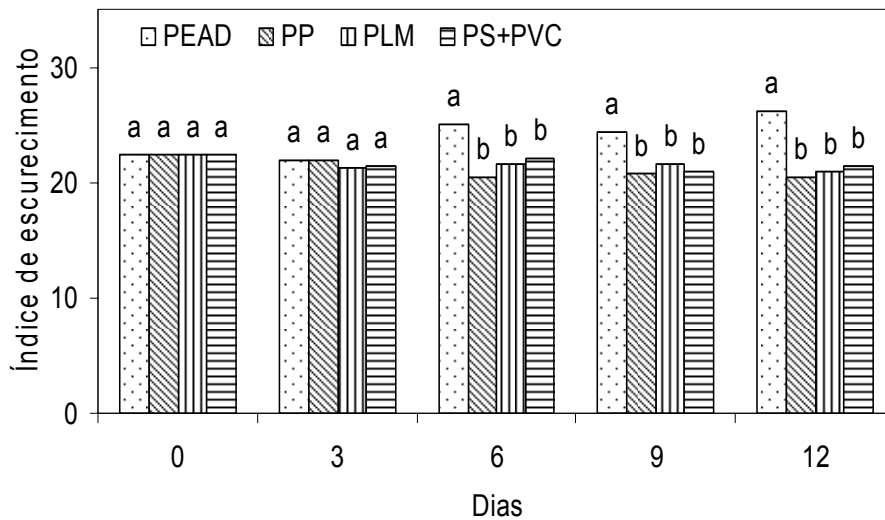
A embalagem que melhor controlou o desenvolvimento de DFP foi a PLM. Nesse tipo de embalagem o produto é embalado sob vácuo e, seu uso tem sido muito empregado em produtos minimamente processados. No entanto, deve-se tomar cuidado quanto ao uso indiscriminado desse tipo de embalagem quando a cadeia de frio não é mantida.

A quebra da cadeia de frio pode promover o estufamento da embalagem, promovendo o metabolismo fermentativo e, desenvolvendo sabores e odores indesejáveis, bem como o desenvolvimento de microorganismos anaeróbios, os quais na sua maioria são patogênicos, por exemplo, *Clostridium botulinum*.

#### **d) Índice de escurecimento**

No tempo zero, não houve diferença no índice de escurecimento em relação aos diferentes tipos de embalagens, o que já era esperado, pois os

pedaços de mandioca foram submetidos ao mesmo tratamento, variando apenas o tipo de embalagem em que foram acondicionados (Figura 9). Nessa avaliação o IE foi de 22,5 e foi considerado como referencial para determinar a variação ao longo do período de conservação.



**Figura 9.** Índice de escurecimento (IE) em mandioca, cv. Cacauzinha, após processamento mínimo, embalada em polietileno de alta densidade (PEAD), polipropileno (PP), poliolefina multicamadas (PLM) e poliestireno mais poli (vinil cloreto) (PS+PVC) e, conservada a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

No terceiro dia de conservação todas as embalagens proporcionaram redução no IE, em relação à avaliação anterior, essa redução foi de 2,6, 2,5, 5,4 e 4,9 % para as embalagens de PEAD, PP, PLM e PS+PVC, respectivamente. O IE não diferiu entre as embalagens em cada tempo de avaliação.

Aos seis e nove dias de conservação o IE aumentou na embalagem de PEAD em relação ao primeiro dia de avaliação, para as demais embalagens, PP, PLM e PS+PVC, houve redução no IE em relação à avaliação inicial.

No décimo segundo dia de conservação, a embalagem de PEAD apresentou aumento de 16,4 % e, as outras embalagens apresentaram redução de 8,9 % para PP, 6,6 % para PLM e 4,5 % para PS+PVC, em relação à primeira avaliação.

Na embalagem de PEAD, o aumento no IE pode estar relacionado com o

início do aparecimento do sintoma de *Pseudomonas* sp., ou então, estar associado a alta taxa de permeabilidade ao O<sub>2</sub>. Porém, a redução do IE observada nas demais embalagens é totalmente atípica, pois o esperado era que aumentasse ou permanecesse constante. Esses resultados diferem dos encontrados por Pineli *et al.* (2005a) onde o IE aumentou ao longo do período de armazenamento para batatas 'Ágata' minimamente processadas embaladas em náilon multicamadas.

Diante desses resultados, surge um questionamento referente à metodologia utilizada, colorimetria L\*a\*b\*, para determinar o IE. Essa metodologia parece não ser adequada para mandioca, visto que o escurecimento se dá por pontuações concêntricas e espaçadas umas das outras, na superfície do corte. Quando o colorímetro faz a leitura, a luz incide na superfície e encontra parte pigmentada e parte sem pigmentação e, isso pode interferir no resultado. A superfície com escurecimento em mandioca é diferente da superfície escurecida de outros produtos como batata ou maçã, por exemplo, nesses dois produtos o escurecimento ocorre na forma de uma mancha homogênea na superfície cortada.

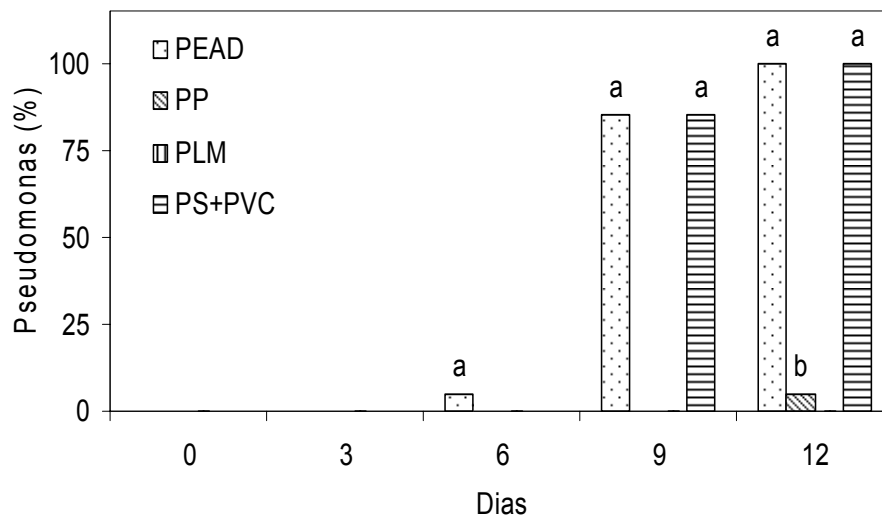
Outro fator que pode interferir na determinação do IE por meio de colorimetria para mandioca, é o fato das amostras serem destrutivas, ou seja, para cada tempo de avaliação uma nova amostra é tomada. A possibilidade de se utilizar a mesma amostra durante o período de conservação é descartada por dois motivos. Em primeiro lugar, as características de brilho e opacidade referente a cada tipo de embalagem impossibilitam que a leitura seja feita diretamente sobre a embalagem. Em segundo, poderia se pensar em abrir a embalagem, fazer a leitura e selar a embalagem novamente. Esse procedimento não é recomendável porque a atmosfera ao redor do produto seria alterada, interferindo na atividade das enzimas oxidativas, acelerando ou intensificando os sintomas da DFP, fugindo completamente da simulação de comercialização.

Por último, outro ponto desfavorável ao uso de colorimetria na determinação de DFP em mandioca minimamente processada, é a incidência de *Pseudomonas* sp., o desenvolvimento desse microrganismo "camufla" os sintomas de DFP, interferindo diretamente na determinação da cor. Esse fator também interfere na avaliação visual da DFP, pois dificulta a visualização dos

sintomas característicos.

### c) Desenvolvimento de *Pseudomonas* sp.

Os sintomas de *Pseudomonas* sp. começaram aos seis dias de conservação apenas nos pedaços de mandioca acondicionados na embalagem de PEAD (Figura 10).



**Figura 10.** Incidência de *Pseudomonas* sp. (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, embalada em polietileno de alta densidade (PEAD), polipropileno (PP), poliolefina multicamadas (PLM) e poliestireno mais poli (vinil cloreto) (PS+PVC) e, conservada a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

No nono dia de conservação, as embalagens de PEAD e PS+PVC apresentaram 85 % dos pedaços de mandioca minimamente processada com sintoma de *Pseudomonas* sp.. Enquanto que as embalagens de PP e PLM não apresentaram sintomas.

Aos doze dias de conservação a incidência de *Pseudomonas* sp. aumentou para 100 % nas embalagens de PEAD e PS+PVC. A embalagem de PP com 5 % dos pedaços de mandioca com sintomas não apresentou diferença com relação a PLM. Os pedaços de mandioca embalados em PLM, não apresentaram desenvolvimento de *Pseudomonas* sp. em nenhum dos tempos de

avaliação.

O aparecimento dos sintomas somente no nono dia de conservação pode ser explicado pelo lento desenvolvimento dessa bactéria. Segundo Vanetti (2008) essa bactéria tem como característica desenvolvimento lento, em torno de 6 a 8 dias, é um microorganismo psicrotrópico e anaeróbio, ou seja, desenvolve-se em baixas temperaturas e necessita de oxigênio.

A alta incidência de *Pseudomonas* sp. no produto embalado em PEAD, pode estar relacionada a sua baixa taxa de permeabilidade ao vapor d'água associada a alta taxa de permeabilidade ao oxigênio, sendo que, a primeira característica propicia a condensação de água na superfície da embalagem e conseqüentemente promove o desenvolvimento de patógenos sobre o produto e, a segunda oferece um ambiente aeróbio favorável ao desenvolvimento dessa bactéria.

Geraldine (2000) utilizando filme de polietileno de baixa densidade, constatou a condensação de água na superfície interna do filme e o desenvolvimento de fungos sobre alho minimamente processado sob condições de refrigeração.

A embalagem de PS+PVC também apresentou alta incidência de *Pseudomonas* sp.. Para a discussão dessa embalagem será considerado somente o filme de PVC, pois na realidade as trocas gasosas e de vapor d'água estão sendo realizadas através do filme de PVC, ficando a bandeja de poliestireno expandido (PS) somente com a função de suporte para a mandioca minimamente processada. Como o filme de PVC tem alta taxa de permeabilidade ao vapor d'água e baixa taxa de permeabilidade ao O<sub>2</sub>, o desenvolvimento pode não estar relacionado à alta umidade no interior da embalagem e, nem ao alto teor de O<sub>2</sub> na atmosfera interna da embalagem, para esse caso.

Alves *et al.* (2005) observaram deterioração fisiológica e microbiológica, em mandioca minimamente processada e embalada em bandejas de PS revestidas com PVC, aos sete dias de conservação a 5°C.

Os parâmetros acima citados foram determinados com a intenção de escolher uma embalagem adequada para mandioca minimamente processada, em substituição a poliolefina multicamadas. Levou-se em consideração os parâmetros de perda de massa fresca, incidência de DFP e incidência de

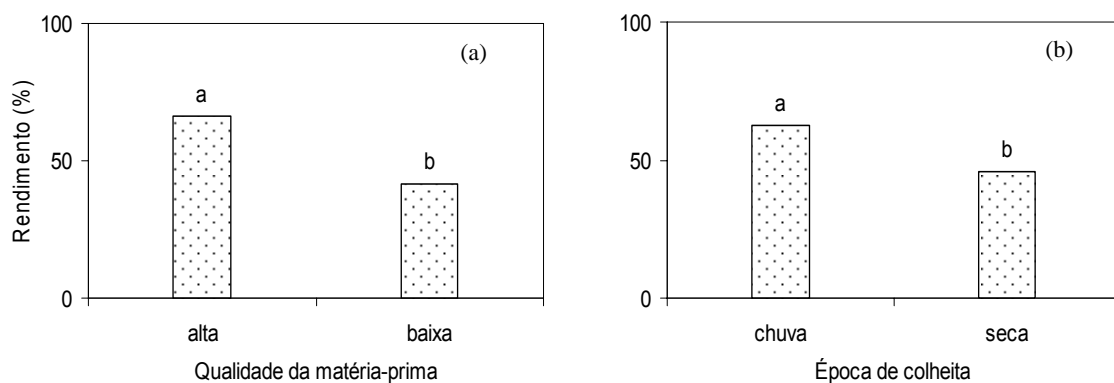
*Pseudomonas* sp.. O parâmetro IE foi desconsiderado por não apresentar confiabilidade, pois os sintomas de *Pseudomonas* sp. interferiram na leitura expressa pelo colorímetro.

Assim sendo, a embalagem de polipropileno surge como uma alternativa ao uso de vácuo, não apresentando problemas se a cadeia de frio for quebrada, pois a atmosfera no seu interior nunca ficará numa situação de anaerobiose devido a sua permeabilidade a gases. Outro fator importante e decisivo na escolha desse tipo de embalagem é o custo da embalagem e da seladora, os quais são bem inferiores se comparados aos usados para vácuo.

### 3.2. Rendimento

O rendimento de mandioca minimamente processada foi influenciado pela qualidade da matéria-prima e pela época de colheita (Figura 11).

A matéria-prima foi fundamental para se ter um produto processado com boa qualidade e também influenciou no rendimento, que ficou em torno de 66 % (Figura 11a), pois raízes com danos de pragas e patógenos foram descartadas.



**Figura 11.** Rendimento (%) de mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, em função da (a) qualidade da matéria-prima e (b) da época de colheita. Época das chuvas de novembro a março e, época da seca de abril a agosto, colhidas na região da Zona da Mata Mineira.

Outro fator importante foi a época de colheita, pois na região da Zona da

Mata Mineira a estação das chuvas é bem definida e a umidade do solo, fora desse período, fica muito baixa e como consequência, os danos mecânicos durante a colheita, como cortes provocados pela enxada e ferimentos durante o arranquio das raízes do solo, foram maiores. Esse tipo de dano afetou o rendimento, em função do desenvolvimento da deterioração fisiológica pós-colheita, que pode manifestar seus sintomas até 72 h após a colheita e, raízes que apresentaram esse sintoma foram descartadas. Assim, o rendimento em função da época de colheita foi de aproximadamente 62 % (Figura 11b).

Rickard (1981) observou que as injúrias mecânicas nas extremidades distal e proximal das raízes de mandioca, bem como na casca, durante a colheita, promoveram o rompimento dos tecidos e a polifenoloxidase atuou oxidativamente sobre o substrato disponível, acelerando a deterioração fisiológica.

Esses valores podem parecer baixos, mas para mandioca foi razoável, levando-se em consideração a quantidade de resíduos gerada pelo processamento mínimo de mandioca. O resíduo foi constituído de casca, entrecasaca, pontas e partes tortuosas das raízes, além das raízes com danos de pragas e patógenos. Medeiros *et al.* (2006) avaliaram algumas hortaliças como couve, cenoura e repolho e, encontraram um rendimento médio na faixa de 50 a 70 %, dependendo do produto e do tipo de corte.

#### 4. CONCLUSÕES

- Os sanitizantes testados, dicloro s-triazinatriona sódica Dihidratada (Sumaveg<sup>®</sup>), dióxido de cloro (Tecsa Clor<sup>®</sup>) e ácido peracético, controlaram o desenvolvimento de *Pseudomonas* sp. até seis dias de conservação a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR;
- A centrifugação dos pedaços de mandioca minimamente processados por 30 seg a 800 g foi suficiente para remoção da água adsorvida durante o processamento;
- Os antioxidantes ácido ascórbico e ácido cítrico proporcionaram melhor controle no desenvolvimento da deterioração fisiológica pós-colheita na concentração de 3 % e, a combinação de ambos na proporção de 2:1 apresentou efeito sinergista;
- A embalagem de poliolefina multicamadas (PLM) controlou o desenvolvimento de deterioração fisiológica pós-colheita durante 12 dias de conservação;
- A embalagem de polipropileno (PP) manteve a mandioca minimamente processada com boas características organolépticas até seis dias de conservação, podendo ser usada em substituição ao vácuo sempre que a cadeia de frio possa ser quebrada;

## **CAPÍTULO 2**

### **AVALIAÇÃO DA ATMOSFERA INTERNA DAS EMBALAGENS COM MANDIOCA MINIMAMENTE PROCESSADA**

#### **1. INTRODUÇÃO**

Produtos minimamente processados geralmente têm o seu metabolismo acelerado devido aos danos provocados durante o processamento, que aumentam a velocidade de respiração e, em alguns casos, a produção de etileno (Porte e Maia, 2001), deixando o produto mais perecível, com vida útil mais curta, comparada aos produtos intactos (Watada *et al* 1996).

O uso de atmosfera modificada em produtos minimamente processados tem aumentado nos últimos anos (Arruda *et al.*, 2003), quando aplicada corretamente, prolonga a vida útil, pois diminui a disponibilidade de oxigênio, mantendo as características de frescor do produto (Geraldine, 2000). Geralmente, essa atmosfera é instalada de maneira passiva, ou seja, pela própria respiração do produto (Kader e Watkins, 2000). Essa tecnologia pode ser benéfica na manutenção da qualidade e, a combinação dos gases tem sido baseada na recomendação para o produto inteiro (Saltveit, 1997). Segundo Watada e Qi (1999) produtos minimamente processados podem tolerar níveis mais extremos de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> que o produto intacto, porque o corte facilita a difusão dos gases, antes restrita pela epiderme e cutícula e, também o percurso da difusão do gás do centro para o lado externo do produto é menor que no produto inteiro.

A atmosfera modificada criada dentro da embalagem pode ser passiva, pela respiração do próprio produto ou, ativa pela injeção de uma combinação de gases pré-definida (Kader e Watkins, 2000).

A redução de O<sub>2</sub> e/ou a elevação de CO<sub>2</sub> para diminuir a taxa respiratória,

de produtos minimamente processados, tem sido reconhecida como a principal razão dos efeitos benéficos da atmosfera modificada (Abe e Watada, 1991). Porém, a deterioração pós-colheita de vegetais pode ser causada por muitos fatores adicionais à taxa respiratória, que incluem: mudanças metabólicas, injúrias físicas, perda de água, desordens fisiológicas e microbiológicas (Kader 1986).

Altas concentrações de CO<sub>2</sub> podem reduzir efeitos do etileno e diminuir o desenvolvimento de microorganismos. Por outro lado, esses mesmos níveis podem promover respiração anaeróbica, metabolismo fenólico e causar injúrias nos tecidos de alguns produtos (Kader e Zagory, 1989). A dissolução de CO<sub>2</sub> em excesso no meio intracelular altera o pH, afetando de forma negativa a atividade catalítica das enzimas (Kader, 1986, Saltveit, 2003).

Baixos níveis de O<sub>2</sub> reduzem a respiração, a síntese e ação do etileno, mas também, estimulam a respiração anaeróbica, a produção de sabores indesejáveis e, possivelmente o desenvolvimento de microorganismo (Saltveit, 2003).

Níveis muito baixos de O<sub>2</sub> podem promover respiração anaeróbica, em que a via glicolítica substitui o ciclo de Krebs como a principal fonte de energia. O ácido pirúvico é descarboxilado para formar acetaldeído e, a partir deste, CO<sub>2</sub> e etanol são produzidos resultando no desenvolvimento de sabores estranhos, rompimento e escurecimento dos tecidos (Rolle e Chrism, 1987).

A atmosfera no interior da embalagem afeta não apenas o metabolismo do produto, como também é fundamental na seleção da microflora presente. Altos níveis de CO<sub>2</sub> diminuem o crescimento de microorganismos porque podem deslocar o oxigênio e, também pela acidificação do meio celular (Daniels *et al*, 1985). O poder penetrante do CO<sub>2</sub> nas células dos microorganismos é cerca de 20 vezes mais rápido que o O<sub>2</sub> (Porte e Maia, 2001).

No acondicionamento em atmosfera modificada, a composição dos gases no interior da embalagem, geralmente é alterada pelo uso de filmes plásticos, permitindo que a concentração de CO<sub>2</sub> proveniente do próprio produto aumente e, a concentração de O<sub>2</sub> diminua, à medida que ele é utilizado pelo processo respiratório e, varia em função da temperatura de conservação, do tipo de filme e da taxa respiratória do produto.

A conservação sob refrigeração é um fator essencial no prolongamento da vida pós-colheita de produtos frescos, uma vez que as baixas temperaturas reduzem o metabolismo e, conseqüentemente, a taxa de respiração, produção e sensibilidade ao etileno, perda de umidade e desenvolvimento de patógenos (Watada *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 1993). Porém, alguns produtos são sensíveis a baixas temperaturas e, podem desenvolver distúrbios fisiológicos chamados de “chilling injury” (Kader e Watckins, 2000). A associação do uso de baixas temperaturas com embalagem em atmosfera modificada pode ser a solução para esse problema, pois trabalhar-se-á com temperatura um pouco maior, prevenindo a injúria pelo frio, mantendo a taxa metabólica baixa pela modificação nas concentrações dos gases ao redor do produto (Watada e Qi, 1999).

A designação de uma atmosfera modificada ótima para cada produto é extremamente difícil, pois para cada produto vegetal existe uma atmosfera específica que maximiza a durabilidade (Cantwell, 1992). No mínimo seis variáveis associadas ao produto, estão diretamente envolvidas com a atmosfera interna da embalagem, duração do armazenamento, temperatura de conservação, umidade relativa e as concentrações de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e etileno, sem deixar de considerar as características do filme como, espessura e taxas de permeabilidade a gases e ao vapor d'água (Saltveit, 2003).

A utilização de embalagem sob vácuo pode retardar processos oxidativos que resultam em escurecimento dos tecidos (Cantwell, 1992) e seu uso tem sido indiscriminado. No entanto, a aplicação de vácuo, associado à quebra da cadeia de frio, que frequentemente ocorre na comercialização, resulta em considerável redução da vida útil, notável pelo aparecimento de colorações, sabores, odores e microorganismos indesejáveis (Kader e Watkins, 2000). Assim sendo, objetivou-se com esse trabalho definir uma embalagem, dentre as existentes no mercado, que substituísse a embalagem sob vácuo, garantindo qualidade à mandioca minimamente processada e segurança alimentar ao consumidor.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Material vegetal**

As raízes de mandioca, cultivar Cacauzinha, foram produzidas no campo experimental da Universidade Federal de Viçosa em Coimbra, MG e em uma propriedade particular no município de Pedra do Anta, MG. As raízes, com 16 meses de idade, foram colhidas manualmente, acondicionadas em caixas plásticas e, em seguida, transportadas para a unidade de processamento mínimo na UFV, onde foram imediatamente processadas.

O processamento mínimo foi realizado de acordo com o fluxograma determinado no capítulo 1. O produto foi acondicionado em vidros hermeticamente fechados e nas embalagens de polietileno de alta densidade (PEAD), polipropileno (PP) e poliestireno revestida com poli (vinil cloreto) (PS+PVC).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições para todos os experimentos.

### **2.2. Taxa de respiração**

Amostras de aproximadamente 500 g de mandioca inteira e minimamente processada (pedaços - meio toletes) foram acondicionadas em frascos de vidro com volume de 1,7 L, hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração a  $8 \pm 2$  °C. Alíquotas de 1mL foram tomadas com o auxílio de seringas plásticas descartáveis, após a homogeneização da atmosfera no interior dos frascos, nos tempos pré-determinados de 0, 12, 24, 36 e 48 h.

A taxa respiratória (TR) foi estimada a partir da quantificação de dióxido de carbono na atmosfera interna dos vidros, determinada em cromatógrafo a gás Shimadzu (Mod. GC 14B), equipado com detector de condutividade térmica e

coluna empacotada com Porapak-Q. As temperaturas da coluna, injetor e detector utilizadas foram de 60, 100 e 140 °C, respectivamente. A quantificação das concentrações de CO<sub>2</sub> foi feita por comparação do pico produzido pela amostra com aquele produzido pela aplicação de uma alíquota de 1,0 mL de um padrão de 1 % de CO<sub>2</sub>, sendo a taxa respiratória estimada através das equações propostas por Kays (1991) e expressa em mL CO<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>.

### **2.3. Produção de etileno**

Amostras de aproximadamente 500 g de mandioca inteira e minimamente processada (pedaços - meio toletes) foram acondicionadas em frascos de vidro com volume de 1,7 L, hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração a 8 ± 2°C. Alíquotas de 1mL foram tomadas com o auxílio de seringas plásticas descartáveis, após a homogeneização da atmosfera no interior dos frascos, nos tempos pré-determinados de 0, 12, 24, 36 e 48 h.

As concentrações de etileno na atmosfera interna dos frascos foi determinada em cromatógrafo a gás Hewlet-Packard 5890, empacotado com detector de ionização de chama e coluna empacotada com PorapaK-N. As temperaturas da coluna, injetor e detector utilizadas foram de 60, 100 e 150 °C, respectivamente. A quantificação das concentrações de etileno, foi feita por comparação do pico produzido pela amostra com aquele produzido pela aplicação de uma alíquota de 1,0 mL de um padrão de 0,8 µL.L<sup>-1</sup> de etileno, sendo a produção de etileno estimada através das equações propostas por Kays (1991) e expressa em µL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>

### **2.4. Atmosfera do espaço vazio das embalagens**

A atmosfera do espaço vazio das embalagens foi determinada por meio de um analisador de gases “Oxygenand Carbon Dioxide Headspace Analyzer” (Modelo 6600) que utiliza cerâmica de zircônia como sensor eletroquímico para o oxigênio e, um detector infravermelho para o dióxido de carbono. A amostra dos gases foi tomada diretamente pelo aparelho, por meio de uma sonda introduzida no septo da embalagem durante 20 s, com fluxo de 5 mL.s<sup>-1</sup>. Os valores lidos

foram expressos em porcentagem (%). A produção de etileno foi determinada em cromatografia gasosa conforme descrito no item 2.3.

Amostras contendo aproximadamente 500 g de mandioca minimamente processada foram avaliadas aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de conservação a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % de UR.

## **2.5. Análise estatística**

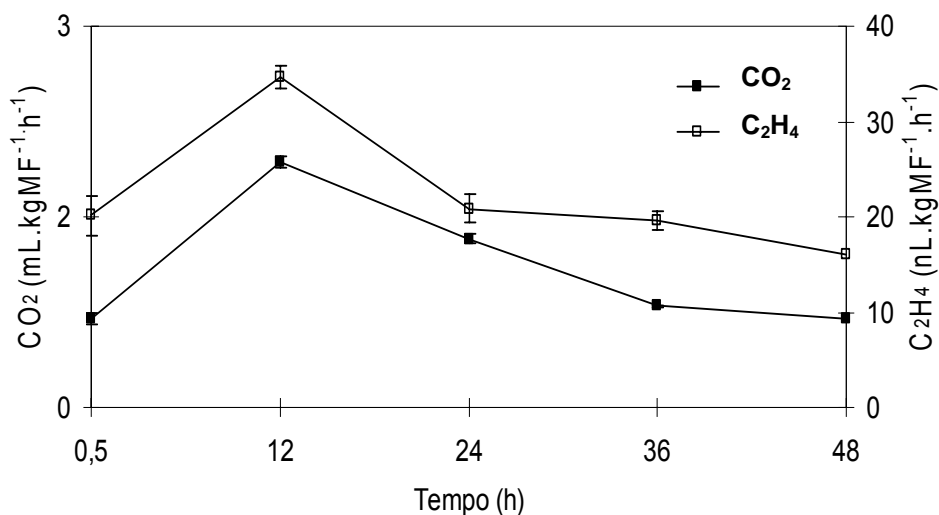
Foi utilizada estatística descritiva de média e desvio padrão.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Taxa respiratória e produção de etileno

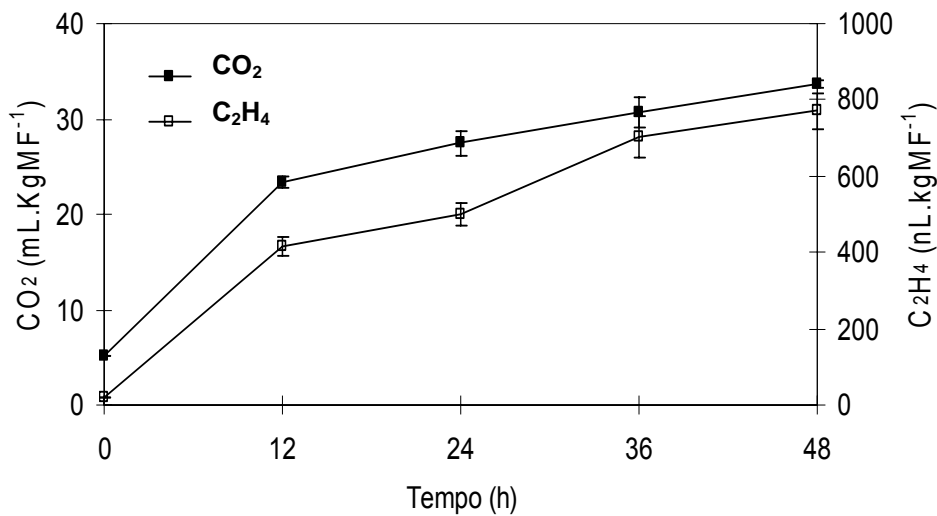
A taxa respiratória da mandioca minimamente processada, acondicionadas em sistema fechado logo após o processamento e mantidas sob refrigeração por até 48 h, aumentou nas primeiras 12 h atingindo o maior valor de  $2,1 \text{ mL.kg}^{-1}\text{MF.h}^{-1}$ , decrescendo mais acentuadamente para  $0,9 \text{ mL.kg}^{-1}\text{MF.h}^{-1}$  em 36 h e, permanecendo praticamente,  $0,8 \text{ mL.kg}^{-1}\text{MF.h}^{-1}$ , até 48 h de conservação (Figura 1).

A produção de etileno atingiu  $34,6 \text{ nL.kg}^{-1}\text{MF.h}^{-1}$  em 12 h, mostrando comportamento similar ao do  $\text{CO}_2$ , reduzindo para  $20,9 \text{ nL.kg}^{-1}\text{MF.h}^{-1}$  em 24 h, permanecendo praticamente estável até 36 h e, decrescendo lentamente para  $16,0 \text{ nL.kg}^{-1}\text{MF.h}^{-1}$  em 48 h (Figura 1).



**Figura 1.** Taxa respiratória ( $\text{CO}_2$ ) e produção de etileno ( $\text{C}_2\text{H}_4$ ) em raízes de mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, em sistema fechado a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR. As barras representam o erro padrão da média.

A concentração de CO<sub>2</sub> no interior dos vidros aumentou até 23,4 mL .kg<sup>-1</sup>MF em 12 h, após esse período foi aumentando lentamente até 33,7 mL.kg<sup>-1</sup>MF em 48 h. O etileno teve aumento de 415,6 ηL.kg<sup>-1</sup>MF nas primeiras 12 h e continuou aumentando lentamente até 500,6 ηL.kg<sup>-1</sup>MF em 36 h, com novo aumento acentuado até 702,9 ηL.kg<sup>-1</sup>MF em 36 h, estabilizando com 770,4 ηL.kg<sup>-1</sup>MF em 48 h (Figura 2).



**Figura 2.** Acúmulo de CO<sub>2</sub> e C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> em raízes de mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, em sistema fechado a 8 ± 2 °C e 90 ± 5 % UR. As barras representam o erro padrão da média.

O aumento da taxa respiratória e da produção de etileno nas primeiras 12 h após o processamento foi devido, ao aumento do metabolismo no tecido vegetal provocado pelo estresse, tanto físico como químico, das etapas do processamento mínimo, bem como às injúrias provocadas durante a colheita e transporte das raízes de mandioca (Watada *et al.*, 1990). Segundo Hoffman e Yang (1980) o fermento nos tecidos vegetais induziu a produção de etileno a elevadas taxas em poucos min, atingindo maior valor dentro de 6 a 12 h. O aumento da respiração nos tecidos injuriados é uma consequência do aumento do etileno, o qual estimula a respiração (Yang 1985; Kader, 2000).

Após o período de 12 h observou-se queda na taxa respiratória e também na produção de etileno, isso pode ter ocorrido em consequência da redução do

O<sub>2</sub> na atmosfera no interior dos vidros, pois a ACC-oxidase necessita de O<sub>2</sub> para converter o ACC em etileno (Yang, 1985). Outro fator responsável por essa queda é o efeito inibitório do CO<sub>2</sub>, pois altos níveis de CO<sub>2</sub> afetam tanto o processo de respiração, quanto a síntese e ação do etileno (Kader, 1986).

A taxa respiratória e a produção de etileno variam de acordo com o produto e também com o órgão processado que está sendo avaliado. Inflorescências, como o brócolis, apresentam metabolismo acelerado, já as raízes, geralmente, apresentam baixo metabolismo (Moretti, 2007).

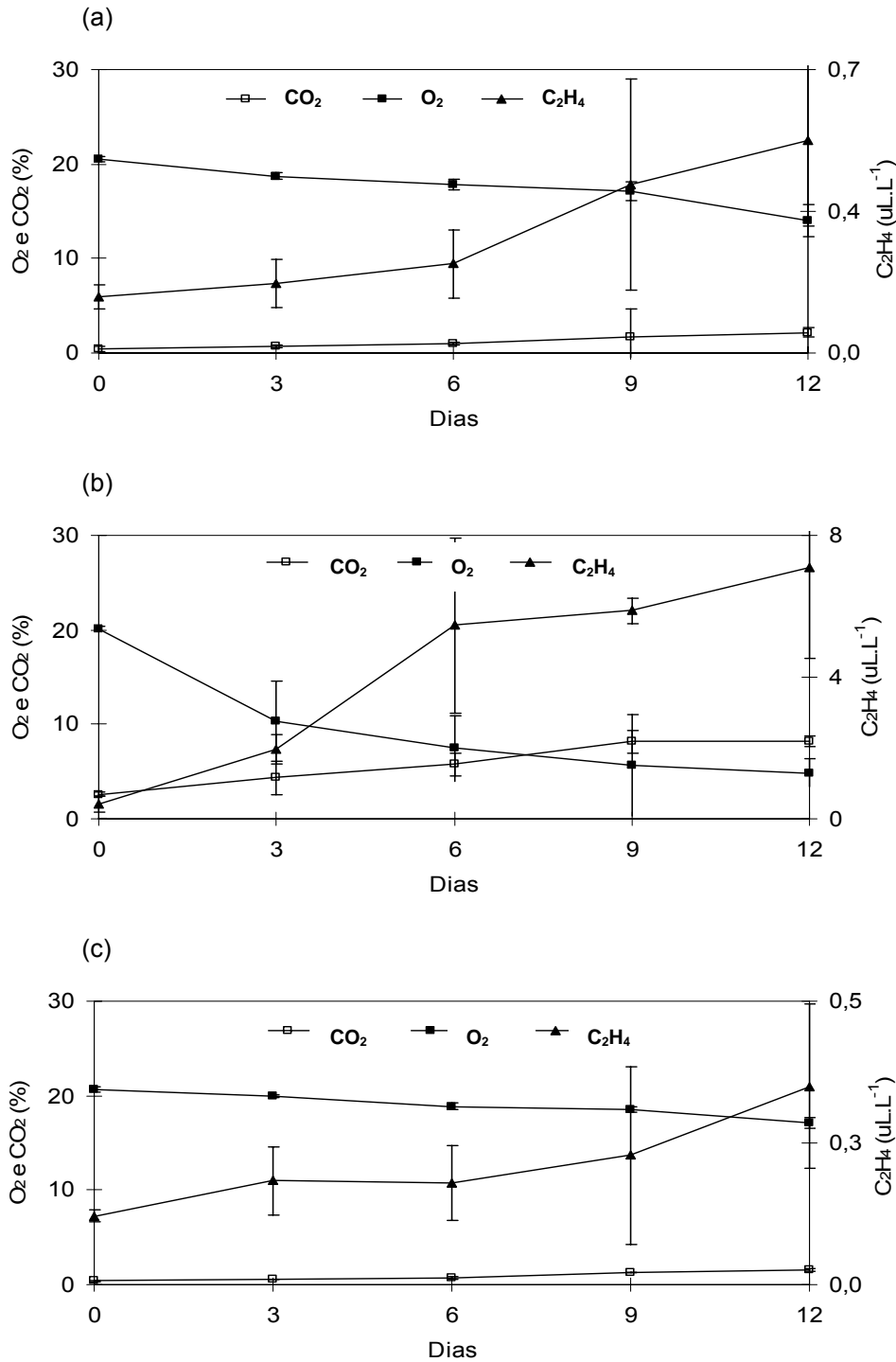
A taxa respiratória e a produção de etileno são bons indicadores da intensidade dos danos causados aos tecidos durante as operações de processamento mínimo (Abe e Watada, 1991). Essa avaliação é fundamental no momento da escolha da embalagem para acondicionamento de frutas e hortaliças minimamente processadas, visando diminuir a queda de qualidade e aumentar a vida útil do produto.

No caso específico da mandioca, os danos promovidos pelo processamento mínimo promovem o estriamento vascular, o qual está associado à oxidação da escopoletina, um composto fenólico. Tanto o etileno induzido pelo ferimento, quanto pela perda de água pode ser a causa imediata do estriamento vascular (Watada, 1999). Quanto maior a espessura do corte, maiores são as respostas fisiológicas, pois aumenta o metabolismo, aumenta a produção de etileno, aumenta a respiração, aumenta a biossíntese de compostos fenólicos e o somatório desses fatores induz reações indesejadas como o escurecimento enzimático (Watada, 1990).

### **3.2. Avaliação da atmosfera modificada da embalagem**

Os resultados da avaliação da atmosfera interna das diferentes embalagens contendo mandioca minimamente processada estão na Figura 3.

Na embalagem de polietileno de alta densidade (PEAD), o nível de O<sub>2</sub> variou de 20,5 a 14,0 % durante os 12 dias de conservação. O nível de CO<sub>2</sub> variou de 0,4 a 2,1 durante o período de conservação. O etileno aumentou de 0,1 a 0,5 µL.L<sup>-1</sup> até os 12 dias de conservação (Figura 3a).



**Figura 3.** Teores de CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> e etileno de gases respiratórios no “head space”, das embalagens (a) polietileno de alta densidade (PEAD), (b) polipropileno (PP) e (c) poliestireno mais poli (vinil cloreto) (PS+PVC), contendo mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, mantidas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR. As barras representam o desvio padrão da média.

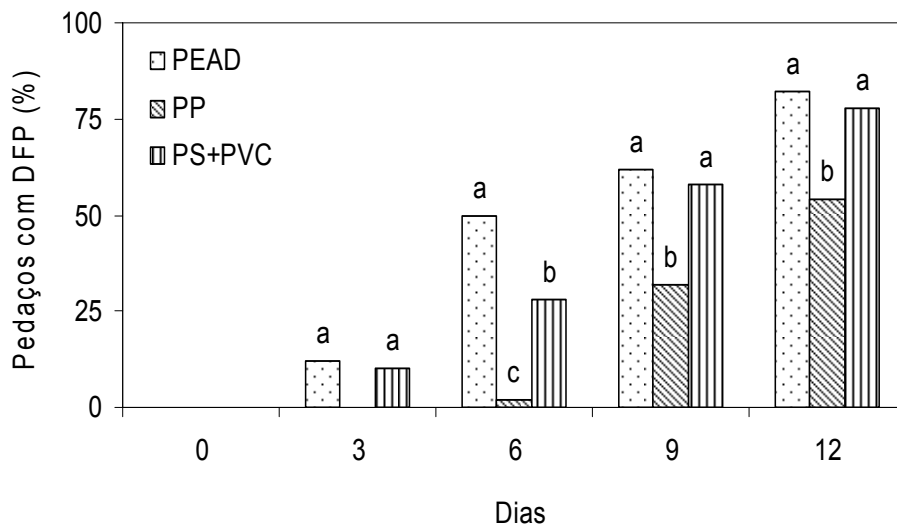
Na embalagem de polipropileno (PP), o nível de O<sub>2</sub> variou de 20,6 a 4,9 % durante os 12 dias de conservação. O nível de CO<sub>2</sub> aumentou rapidamente de 2,6 para 8,2 % aos 12 dias de conservação. O etileno aumentou de 0,4 a 7,1 μL.L<sup>-1</sup> do início ao final do período de conservação (Figura 3b).

A embalagem de poliestireno revestida com filme de poli (vinil cloreto) (PS+PVC) apresentou comportamento semelhante ao PEAD. O nível de O<sub>2</sub> variou lentamente de 20,7 a 17,1 % até o final do período de conservação. O CO<sub>2</sub> variou de 0,4 a 1,5 % durante os 12 dias de conservação. A concentração de etileno aumentou lentamente de 0,1 até 0,3 μL.L<sup>-1</sup> durante o período de conservação (Figura 3c).

Comparando os teores de gás carbônico, de oxigênio e de etileno nas três embalagens, nota-se que a PEAD e PS+PVC apresentaram comportamento semelhante para esses três gases. Os níveis de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> permaneceram mais próximos dos teores encontrados na atmosfera ambiente. Pela concentração de etileno, pode-se concluir que a sua difusão através dessas embalagens é praticamente a mesma. A atmosfera no interior da embalagem de PP, mostrou comportamento diferenciado, redução significativa no nível de O<sub>2</sub> e, aumento nos níveis de CO<sub>2</sub> e etileno entre os três e seis dias de conservação. Após o sexto dia, tanto a redução do O<sub>2</sub>, quanto a evolução do CO<sub>2</sub> e do etileno variaram lentamente até o final do período de conservação. A composição diferenciada na atmosfera no interior da embalagem de PP, é devida única e exclusivamente a características de permeabilidade do filme, visto que as três embalagens foram mantidas sob refrigeração na mesma temperatura e também, possuíam a mesma massa de mandioca minimamente processada no seu interior.

Analisando a incidência de DFP nos pedaços de mandioca (Figura 4), em relação às concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, verifica-se menor incidência de DFP na embalagem de PP, em relação às outras duas, durante todo o período de conservação. Isso foi devido à redução nos teores de O<sub>2</sub>, visto que as enzimas envolvidas no desenvolvimento de DFP são oxidativas e, portanto utilizam O<sub>2</sub> como substrato (Carvalho *et al.*, 1982). Esses resultados, também foram influenciados pela umidade relativa (Campos e Carvalho, 1992), pois a embalagem de PP apresenta boa barreira ao vapor d'água, conforme discutido no capítulo 1. Por outro lado, o aumento no nível de etileno, deveria promover o

aumento da incidência de DFP, pois o etileno promove a síntese da enzima PAL e, esta por sua vez promove o metabolismo dos fenilpropanóides, que servem de substrato para enzimas PPO e POD (Ke e Saltveit, 1989), talvez isso possa ser explicado pelo baixo nível de O<sub>2</sub>, fazendo com que mesmo na presença de substrato, a PPO tivesse sua atividade reduzida, ao mesmo tempo em que o teor mais alto de CO<sub>2</sub> reduziu a síntese e ação do etileno (Kader, 1986; Yang, 1985)



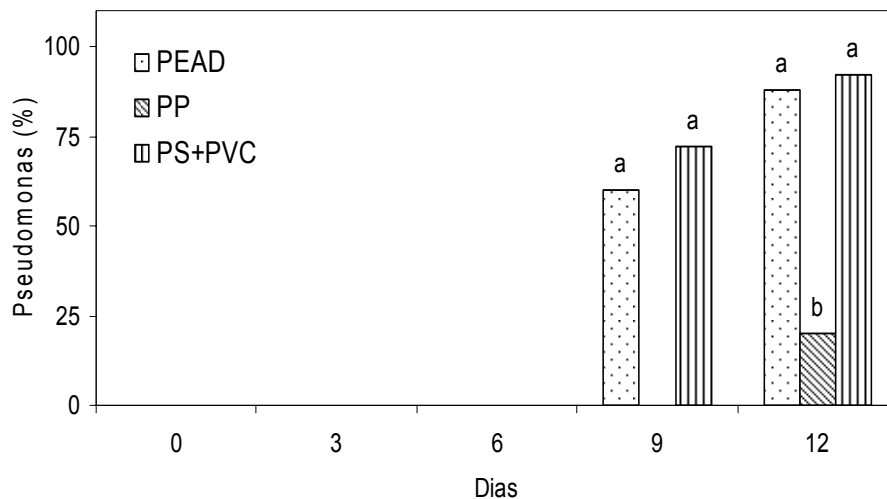
**Figura 4.** Incidência de deterioração fisiológica pós-colheita (DFP) (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, em função da atmosfera no interior das embalagens de polietileno de alta densidade (PEAD), polipropileno (PP) e poliestireno mais poli (vinil cloreto) (PS+PVC), conservada a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

Conforme discutido no item 3.1.4. do capítulo 1, cada filme apresenta características próprias em termos de taxa de permeabilidade a gases e ao vapor de água e, são esses parâmetros juntamente com a temperatura de conservação e a massa do produto a ser embalado que vão garantir o sucesso dessa tecnologia.

Segundo Lange (2000) a variação da temperatura no período de conservação, pode promover uma atmosfera indesejável, seja pela variação no metabolismo do produto ou, pela alteração da taxa de permeabilidade dos filmes utilizados. Essas variações ocorrem em intensidades diferentes, por isso é

importante que a embalagem sob atmosfera modificada mantenha a atmosfera desejada dentro de uma faixa de temperatura (Kader e Watkins, 2000). Níveis muito baixos de oxigênio podem promover metabolismo fermentativo, por outro lado concentrações muito altas de CO<sub>2</sub> (> 15 %) podem ser fitotóxicas (Lange, 2000).

A maior incidência de sintomas nas embalagens onde as concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> foram próximas as concentrações do ambiente externo (Figura 5). Na embalagem de PP, onde a concentração de CO<sub>2</sub> foi em torno de 8 %, nono dia, não houve incidência de sintoma dessa bactéria. Aos 12 dias de conservação a incidência apresentou redução de 80 % em relação às outras duas embalagens. Esse comportamento pode ser devido ao CO<sub>2</sub> em altas concentrações aumentar a fase lag e o tempo de geração no ciclo de crescimento dos microorganismos e, também ao fato de que baixas temperaturas aumentam a solubilidade do CO<sub>2</sub>, acentuando seus efeitos bacteriostáticos, cuja ação máxima ocorre em 1 °C (Daniels *et al.*, 1985).



**Figura 5.** Incidência de *Pseudomonas* sp. (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, em função da atmosfera no interior das embalagens de polietileno de alta densidade (PEAD), polipropileno (PP) e poliestireno mais poli (vinil cloreto) (PS+PVC), conservada a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

Resumindo, a taxa de permeabilidade ao O<sub>2</sub> e ao CO<sub>2</sub> é de fundamental

importância para o alcance da atmosfera de equilíbrio no interior da embalagem. A embalagem mantém um gradiente entre a concentração de gases no ambiente externo e aquela no espaço livre da embalagem. Porém, esse gradiente não é dependente da concentração inicial dos gases e, sim da respiração do produto e da permeabilidade do filme (Soares e Geraldine, 2007).

#### 4. CONCLUSÕES

- A atmosfera modificada promovida pela embalagem de polipropileno controlou a incidência de deterioração fisiológica pós-colheita até seis dias de conservação;
- A atmosfera no interior da embalagem de polipropileno com níveis em torno de 5 % O<sub>2</sub> e 8 % CO<sub>2</sub> controlou o desenvolvimento de *Pseudomonas* sp. até nove dias de conservação;
- A mandioca minimamente processada, mesmo mantida sob refrigeração e embalada sob atmosfera modificada, permite o desenvolvimento de deterioração fisiológica pós-colheita e, o crescimento de microrganismos psicrotróficos, como *Pseudomonas* sp.. A relação entre a composição da atmosfera e a velocidade de respiração tanto do produto quanto dos microrganismos ainda não está clara e, necessita de mais estudos.

## CAPÍTULO 3

### EFEITO DE ANTIOXIDANTES NA DETERIORAÇÃO FISIOLÓGICA PÓS-COLHEITA DE MANDIOCA MINIMAMENTE PROCESSADA

#### 1. INTRODUÇÃO

As hortaliças minimamente processadas têm-se tornado cada vez mais populares pela conveniência e pelos benefícios de um produto natural fresco. Nas grandes cidades, a demanda por produtos minimamente processados tem aumentado devido à qualidade do produto, por ser embalado em pequenas porções e, principalmente, por estar pronto para o consumo (Moretti, 2007). Do ponto de vista técnico, um produto minimamente processado é definido como qualquer fruta, hortaliça, raiz ou outro órgão vegetal comestível, ou a combinação destes, fisicamente alterado, mas que continua com o frescor do produto *in natura*. Os produtos minimamente processados passam por diversas etapas de transformação física, higienização, centrifugação ou drenagem e embalagem (Cantwell, 1992; Puschmann *et al.*, 2006; Moretti, 2006).

A deterioração fisiológica pós-colheita (DFP), por ser escurecimento enzimático, está associado com danos mecânicos que ocorrem durante operações de colheita e manuseio, pois frequentemente as pontas são quebradas enquanto as raízes são puxadas da terra e separadas da planta (Booth, 1976), além de estar associada ao estresse induzido pela perda de água pelos ferimentos, a qual, segundo Rickard (1985), desenvolve-se mais rapidamente quando as raízes são armazenadas em condições de baixa umidade. Essa deterioração desenvolve-se inicialmente nos locais injuriados, dois a três dias após a colheita, em condições ambientais e, é caracterizada pelo aparecimento de estrias azuladas na polpa das raízes de mandioca (Beeching *et*

*al.*, 1994; Cereda e Vilpoux, 2003), que progride por toda a extensão da raiz e, é a causa inicial da perda de aceitabilidade das raízes *in natura* (Cereda e Vilpoux, 2003), sendo, o seu rápido desenvolvimento, atribuído a reações oxidativas que envolvem a síntese de compostos fenólicos (Buschmann *et al.*, 2000) e enzimas, tais como a fenilalanina amônia liase (Tanaka *et al.*, 1983), polifenoloxidase e peroxidase (Ke e Saltveit, 1989; Watada *et al.*, 1990).

A fenilalanina amônia liase, localizada no citoplasma, tem sua atividade aumentada pela injúria do tecido e pelo aumento da síntese de etileno, sendo a enzima chave que catalisa a biossíntese dos fenilpropanóides (Ke e Saltveit, 1989; Cantos *et al.*, 2002). O escurecimento ocorre quando os produtos do metabolismo dos fenilpropanóides, como os compostos fenólicos, são oxidados em reações catalisadas por fenolases, como as polifenoloxidases e peroxidases (Cheng e Crisosto, 1995; Nguyen *et al.*, 2003).

As polifenoloxidases são enzimas que promovem a oxidação de compostos fenólicos produzindo inicialmente quinonas, as quais rapidamente se condensam, formando pigmentos insolúveis e escuros, denominados de melaninas, ou reagem não-enzimaticamente com aminoácidos, proteínas ou outros compostos fenólicos, também formando melaninas (Araújo, 1990; Limbo e Piergiovanni, 2006).

As peroxidases são altamente associadas à coloração azul acinzentada do tecido do xilema e do parênquima de armazenamento das raízes de mandioca, devido a sua ação em oxidar a catequina, um fenol, formando pigmentos insolúveis (Kato, 1991; Beeching *et al.*, 1994). A peroxidase possui um grupo heme e está relacionada com processos de cicatrização como a lignificação. (Cantos *et al.*, 2002)

Os compostos fenólicos servem de substratos para as enzimas citadas e, em condições favoráveis, promovem respostas fisiológicas indesejáveis, como o escurecimento enzimático. Os principais compostos fenólicos associados ao desenvolvimento de deterioração fisiológica em mandioca incluem escopoletina, escopolina, esculina, proantocianidinas, catequinas e ácido clorogênico (Rickard, 1985). Para Tanaka *et al.* (1983), o principal fenólico associado com o estriamento vascular de mandioca é a escopoletina, enquanto a catequina é o mais abundante na periderme das raízes. Segundo Buschmann *et al.* (2000) há

relação entre a acúmulo de escopoletina e os sintomas visíveis de DFP, entretanto a biossíntese e a regulação dessa cumarina em mandioca necessita de mais estudos.

Os fatores mais importantes que determinam a taxa de escurecimento enzimático de hortaliças e frutas minimamente processadas são as atividades das enzimas oxidativas (Lamikanra e Watson, 2001), a concentração de compostos fenólicos presentes, o pH, a temperatura de conservação e a disponibilidade de oxigênio nos tecidos (Martinez e Whitaker, 1995; Chuntintrasri e Noomhorm, 2006). Em produtos frescos, a inativação das enzimas é geralmente inapropriada e a exposição ao oxigênio é inevitável, e também a cadeia de frio nem sempre é mantida, sendo assim, o uso de antioxidantes ou agentes anti-escurecimento, como também são chamados, torna-se uma alternativa para controlar esse problema (Pineli *et al.*, 2005a).

Dentre os antioxidantes mais pesquisados destacam-se os ácidos cítrico e ascórbico, por sua disponibilidade no mercado e também, por seu amplo uso na indústria alimentícia (Pineli *et al.*, 2005a). O ácido cítrico é o principal ácido orgânico em frutas e hortaliças, podendo ter efeito inibidor dual, pois abaixa o pH, além de ser capaz de complexar prooxidantes como o cobre do sítio ativo da enzima PPO, diminuindo a velocidade da reação enzimática (Martinez e Whitaker, 1995; Limbo e Piergiovanni, 2006). O ácido ascórbico, o mais comumente usado, inibe o escurecimento enzimático muito efetivamente, devido sua habilidade em reduzir quinonas novamente a compostos fenólicos, prevenindo a formação de pigmentos escuros (Iyengar e McEvil, 1992). Ele também é considerado um efetivo inibidor da peroxidase, podendo ser utilizado em misturas com o ácido cítrico, sendo que este participa como estabilizador do ácido ascórbico (Araújo, 1990; Lamikanra e Watson, 2001).

Em função da depreciação causada pelo escurecimento enzimático dos pedaços de mandioca minimamente processada e, da inexistência de relatos com o uso de antioxidantes para prevenir tal escurecimento, objetivou-se com esse trabalho controlar o desenvolvimento da deterioração fisiológica pós-colheita, com o uso de agentes antioxidantes associado a embalagem com atmosfera modificada passiva, visando prolongar a vida útil do produto final.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Material vegetal**

As raízes de mandioca, cultivar Cacauzinha, foram produzidas no campo experimental da Universidade Federal de Viçosa em Coimbra, MG e em uma propriedade particular no município de Pedra do Anta, MG. As raízes, com 16 meses de idade, foram colhidas manualmente e acondicionadas em caixas plásticas e, em seguida, transportadas para a unidade de processamento mínimo na UFV, onde foram imediatamente processadas.

### **2.2. Processamento mínimo**

O processamento mínimo foi realizado de acordo com o fluxograma determinado no capítulo 1. O tratamento com antioxidantes foi feito com os ácidos ascórbico e cítrico a 3 %, combinados na proporção de 2:1. Os pedaços de mandioca minimamente processada foram embalados em sacos de polipropileno e mantidos sob refrigeração a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR. Os parâmetros descritos a seguir foram avaliados aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de conservação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos. Cada tratamento teve cinco repetições contendo 10 pedaços de mandioca minimamente processada por repetição.

### **2.3. Análises físico-químicas e fisiológicas**

#### **2.3.1. pH**

A extração do suco dos pedaços de mandioca para determinação do pH foi

realizada, nos diferentes períodos de conservação, com o auxílio de uma centrífuga de frutas doméstica Philips Walita (RI – 6720). O pH foi determinado utilizando-se aproximadamente 10 mL de suco com um peagâmetro digital Digimed (DM -22).

### **2.3.3. Teor de açúcares solúveis totais**

#### **a) Extração**

Os teores de açúcares solúveis totais (AST) foram extraídos retirando-se amostras representativas (5 g) dos pacotes de mandioca aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias, transferidas para um tubo de ensaio e adicionado etanol 80% fervente (60-70°C) até cobrir a amostra. Após trinta min, a amostra foi triturada em “politron” (velocidade 5 por 30 s) e filtrada em papel filtro qualitativo 80 G, seguida de três novas filtragens até se completar o volume para 30 mL. O extrato alcoólico foi transferido para frascos com tampa, vedados com parafilme e armazenados em geladeira para posterior determinação de açúcares solúveis totais e redutores. O resíduo retido no papel filtro foi colocado em envelopes de papel identificados e levados para secagem em estufa a 65 °C por 24 h, sendo armazenados em dessecadores para posterior determinação do teor de amido.

#### **b) Quantificação dos açúcares solúveis totais**

Os açúcares solúveis totais foram quantificados pelo método fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956). O extrato vegetal foi previamente diluído 50 vezes (1 mL do extrato alcoólico completado para 50 mL com água desionizada), do qual foi retirada uma amostra de 250 µL que foi transferida para tubo de ensaio com rosca. Em seguida, foram adicionado 250 µL de fenol a 5 %, agitado e adicionado 1,25 mL de ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram novamente agitados com vortex e levados por 20 min ao banho-maria, à temperatura de 30 °C. Após remoção dos tubos do banho-maria, esses foram colocados em temperatura ambiente por 30 min e, então, procedeu-se a leitura da absorvância em  $\lambda = 490 \text{ nm}$ , em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV1601. Os valores

obtidos foram comparados com a curva padrão de sacarose. O teor de açúcares solúveis totais foi obtido pelo método direto utilizando-se a equação pré-estabelecida:

$$\%AST = ((L \times n \times v) / (MF \times MS)) \times 100 \quad \text{em que:}$$

%AST é a porcentagem de açúcares solúveis totais (base da MS da amostra);

L = concentração da amostra obtida pela leitura do espectrofotômetro ( $\text{g.mL}^{-1}$ );

n = número de diluições caso existir;

v = volume final do extrato bruto;

MF = massa fresca obtida inicialmente pela amostra composta;

MS = massa seca obtida anteriormente

#### **2.3.4. Teor de açúcares redutores e não redutores**

##### **a) Amostra**

Para a quantificação de açúcares redutores (AR) foram utilizadas as mesmas amostras de extrato alcoólico utilizado na quantificação de açúcares solúveis totais.

##### **b) Quantificação do teor de açúcares redutores**

Dos extratos alcoólicos armazenados foram retirados 200  $\mu\text{L}$  e colocados em tubo de ensaio com rosca. Em seguida foi adicionado 200  $\mu\text{L}$  de reativo de Nelson 4 (8 mL de reativo de Nelson 1 + 2 mL de reativo de Nelson 2) pelo método de Somogy-Nelson (Nelson, 1944). Os tubos foram, então, agitados e fervidos em banho-maria por 15 min. Os tubos foram resfriados em temperatura ambiente, e então, acrescentados 200  $\mu\text{L}$  de reativo de Nelson 5 (3,5 mL de reativo de Nelson 3 + 7 mL de ácido sulfúrico (0,75 M)) novamente agitados em vortex e procedida a leitura das absorvâncias a 540 nm em espectrofotômetro

Shimadzu, modelo UV1601. Os valores obtidos foram comparados com a curva padrão de glicose.

Os açúcares não redutores (ANR) foram determinados pela diferença entre os açúcares solúveis totais e os açúcares redutores.

### **2.3.2. Teor de amido**

#### **a) Preparo das amostras**

Para o preparo das amostras seguiu-se a metodologia descrita por McCready *et al.* (1950), utilizando-se o resíduo obtido pela extração de açúcares solúveis totais após secagem por 24 h à temperatura de 65 °C. As amostras foram transferidas do papel filtro para um almofariz e desintegradas. As amostras foram pesadas e dessas foram tomadas 0,1 g e transferidas para um tubo de ensaio com rosca e ressuspensa em 2,5 mL de água desionizada e 3,25 mL de ácido perclórico 52 %, agitado em vortex e deixado em repouso por 30 min. Em seguida foram centrifugadas a 2000 g em centrífuga “Excelsa Baby I Modelo 206” por 10 min. Os sobrenadantes foram coletados por meio de uma pipeta e depositados em proveta de 25 mL. Essa operação foi realizada por 3 vezes, e o volume das provetas foi completado com água desionizada. O extrato foi filtrado e armazenado sob refrigeração em frascos tampados para posterior quantificação.

#### **b) Quantificação do teor de amido**

As amostras armazenadas foram retiradas da refrigeração e colocadas em temperatura ambiente. Em seguida foi realizada a diluição de 50 vezes (1 mL do extrato bruto em balão de 50 mL completado com água desionizada). Dessa diluição utilizou-se uma alíquota de 250 µL para a quantificação do teor de amido, a qual se procedeu da mesma maneira utilizada para quantificação do teor de açúcares solúveis totais.

O teor de amido foi obtido pelo método direto utilizando-se a equação pré-estabelecida:

$$\% \text{ Amido} = ((L \times n \times v) / (MF \times MS)) \times 100 \times 0,9 \quad \text{em que:}$$

% Amido é a porcentagem de amido (base da MS da amostra);

L = concentração da amostra obtida pela leitura do espectrofotômetro ( $\text{g.mL}^{-1}$ );

n = número de diluições caso existir;

v = volume final do extrato bruto;

MF = massa fresca obtida pela amostra composta inicialmente;

MS = massa seca obtida anteriormente.

### **2.3.5. Compostos fenólicos totais**

#### **a) Extração**

Os compostos fenólicos solúveis foram extraídos e quantificados segundo Price e Butler (1977). Amostras de aproximadamente 2 g de mandioca foram tomadas dos pacotes mantidos sob refrigeração aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias, e então, transferidas para um tubo de plástico, acrescentou-se 10 mL de metanol concentrado e em seguida o material foi triturado em politron (velocidade 5 por 30 s). O extrato foi transferido para “ependorf” devidamente identificado e submetidos à centrifugação a 14000 g por 15 min. O sobrenadante foi transferido para um “ependorf” e mantidos no escuro até a quantificação.

#### **b) Quantificação dos compostos fenólicos**

Para a quantificação dos compostos fenólicos foi tomada uma alíquota de 0,5 mL do extrato e transferida para um tubo de vidro. Em seguida foi adicionado 2,5 mL de reagente Folin Ciocautu na proporção de 1:3 (1 parte de reagente para 3 partes de água desionizada), mais 2 mL de solução de carbonato de sódio anidro 10 %. Os tubos foram agitados em vortex e colocados em repouso para reagir por 1 h e mantidos totalmente no escuro. Após o tempo de reação, foi tomada uma alíquota de 1 mL e feita a leitura das absorbâncias a 700 nm em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV1601. Os valores obtidos foram

comparados com a curva padrão de D-catequina e expressos em  $\mu\text{g D-catequina. g}^{-1}\text{MF}$ .

### **2.3.6. Enzima fenilalanina amônia liase (PAL – EC 4.3.1.5)**

#### **a) Extração**

A extração e a atividade da fenilalanina amônia liase foram feitas conforme metodologia descrita por Ke e Saltveit (1986) com adaptações para mandioca.

Para a extração foi tomado 1 g de mandioca mantida sob refrigeração aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias. A amostra foi macerada em almofariz com 8 mL de tampão de extração [tampão borato de sódio 0,1 M, pH 8,8; polivinil pirrolidona (PVPP) 1 %;  $\beta$ -mercaptanol 5 mM; ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) 2 mM] em banho de gelo. Em seguida, o extrato foi filtrado em duas camadas de gaze e centrifugado a 25000 g por 20 min a 4 °C. O extrato enzimático foi colocado em vidro com tampa e mantido em banho de gelo até a determinação da atividade enzimática.

#### **b) Determinação da atividade**

Em um tubo de ensaio foi colocado 2,75 mL de L-fenilalanina (60 mM) em tampão borato de sódio e 0,25 mL de extrato enzimático. A mistura foi agitada em vortéx e pré-incubada por 15 min a 40 °C. Em seguida foi feita a reação em banho termostático a 40 °C por 1 h. A reação foi acompanhada em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV1601, pela variação na absorvância no comprimento de onda de 410 nm. A atividade foi expressa em variação de absorvância (dA).min<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> de proteína.

### **2.3.7. Enzima polifenoloxidase (PPO - EC 1.10.3.1)**

#### **a) Extração**

A extração e a atividade da polifenoloxidase foram feitas conforme

metodologia descrita por Coelho (2001) com adaptações para mandioca.

Para a extração foi tomado 1 g de mandioca mantida sob refrigeração aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de conservação. A amostra foi macerada em almofariz com 6 mL de tampão de extração gelado, tampão fosfato 0,2 M, pH 6; polivinil pirrolidona (PVPP) 1 %, em banho de gelo. Em seguida, o extrato foi filtrado em duas camadas de gaze e centrifugado a 10000 g por 21 min a 4 °C. O extrato enzimático foi colocado em vidro com tampa e mantido em banho de gelo até a determinação da atividade enzimática.

#### **b) Determinação da atividade**

Em um tubo de ensaio foi colocado 1,3 mL de tampão fosfato 0,2 mM, pH 6 e 1,5 mL de catecol 0,2 M em água desionizada. O tubo foi agitado em vortéx e deixado em banho termostático a 25 °C por 2 min no escuro para estabilização da temperatura. Após, foi adicionado 30 µL de extrato enzimático e o tubo foi agitado em vortéx. A reação foi acompanhada em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV1601, pela variação na absorvância no comprimento de onda de 425 nm a 25 °C durante 2 min. A atividade foi expressa em variação de absorvância (dA).min<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> de proteína.

### **2.3.8. Enzima peroxidase (POD – EC 1.11.17)**

#### **a) Extração**

A extração e a atividade da polifenoloxidase foram feitas de acordo com a metodologia descrita por Coelho (2001) com adaptações para mandioca, conforme descrito no item 2.3.7.

#### **b) Determinação da atividade**

Em um tubo de ensaio foram colocado 580 µL de tampão fosfato 0,2 mM, pH 6 e 20 µL de extrato enzimático. O tubo foi agitado em vortéx e deixado em banho termostático a 25 °C por 2 min no escuro para estabilização da

temperatura. Após, foi adicionado 100 µL de guaiacol 0,5 % e 100 µL de peróxido de hidrogênio 0,08 %, e o tubo foi agitado novamente em vortéx. A reação foi acompanhada em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV1601, pela variação na absorvância no comprimento de onda de 470 nm a 25 °C durante 3 min. A atividade foi expressa em variação de absorvância (dA).min<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> de proteína.

### **2.3.9. Proteína**

#### **a) Extração**

Foram usados os mesmos extratos utilizados para determinação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase.

#### **b) Determinação**

A concentração de proteína nas preparações enzimáticas foi determinada como descrito por Bradford (1976). Foi adicionado a um tubo de ensaio 50 µL de extrato enzimático, 50 µL de água desionizada e 1 mL de reagente de Bradford. Após 20 min de reação, foi feita a leitura da absorvância a 595 nm em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV1601. Os valores obtidos foram comparados com a curva padrão de soroalbumina bovina (BSA).

### **2.3.10. Avaliação da deterioração fisiológica pós-colheita**

Determinada conforme descrito no item 2.2.2.b do capítulo 1.

### **2.3.11. Índice de escurecimento**

Determinada conforme descrito no item 2.2.4.a do capítulo 1.

### **2.3.12. Avaliação de *Pseudomonas* sp.**

Determinada conforme descrito no item 2.2.1b.e do capítulo 1.

## **2.4. Determinação do índice de deterioração fisiológica pós-colheita**

O índice de deterioração fisiológica pós-colheita foi determinado em duas etapas, baseado no esquema proposto por Campos e Carvalho (1990). Na primeira etapa, levou-se em consideração somente a presença ou ausência do sintoma de DFP no pedaço de mandioca, ou seja, avaliação visual dos sintomas característicos, pontos de coloração cinza-azulada. Na segunda, foi dada uma nota de acordo com a intensidade do sintoma, considerando-se a área da superfície do corte transversal dos pedaços de mandioca tomada pelo sintoma, objetivando-se determinar um “Índice de DFP”. As notas variaram de 1 a 4, distribuídas da seguinte forma: 1 – 0 % da superfície com sintoma de DFP (ausência de sintoma); 2 – 1 a 30 % da superfície com sintoma; 3 – 31 a 60 % da superfície com sintoma e 4 – mais que 61 % da superfície apresentando o sintoma de DFP.

O Índice de DFP foi determinado, multiplicando-se a porcentagem de pedaços com sintomas de deterioração pela nota referente à sua intensidade na superfície do corte. As avaliações foram feitas aos 0, 3, 6, 9 e 12 dias de conservação.

## **2.5. Análise estatística**

Após análise de variância (ANOVA), os dados foram expressos como médias e comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

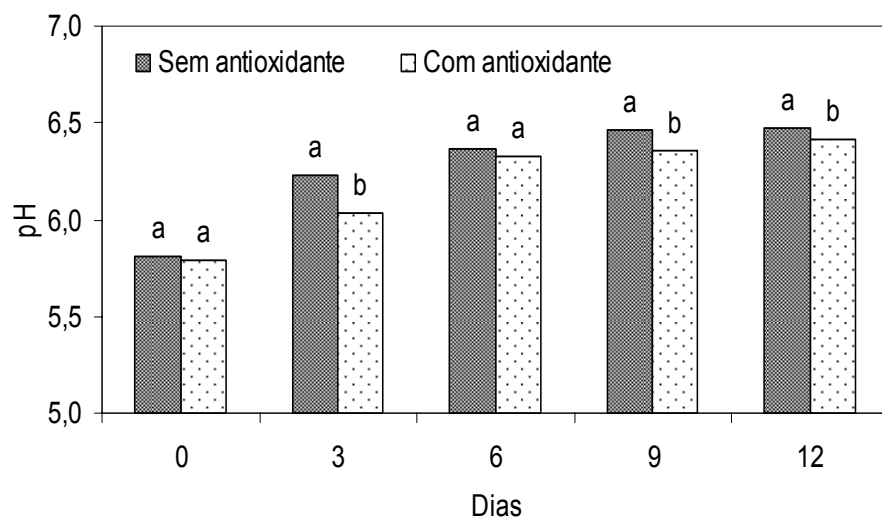
Para as avaliações das atividades das enzimas foi utilizada estatística descritiva de média e desvio padrão.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software SAEG 5, da Central de Processamento de Dados da UFV.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. pH

Os resultados da variação do pH em mandioca minimamente processada durante os 12 dias de conservação, estão na Figura 1. Nos tempos zero e seis dias, não houve diferença entre os tratamentos. Na avaliação feita aos três, nove e 12 dias os valores de pH foram diferentes em relação ao tratamento sem e com antioxidante.



**Figura 1.** Variação do pH em mandioca, após o processamento mínimo, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

Observou-se que o pH aumentou com o passar do tempo nos dois tratamentos e, também que no tratamento com antioxidante os valores de pH permaneceram sempre inferiores em relação ao tratamento sem antioxidante. Os resultados obtidos diferem de Oliveira *et al.* (2003) que atribuíram a redução no

pH em mandioca minimamente processada até o sétimo dia de conservação, ao uso de ácido cítrico como agente antioxidante.

Baseado nos resultados de outros experimentos a diferença aqui encontrada, não deve ser associada ao baixo pH da solução antioxidante, em torno de 3,5, visto que o tempo de exposição foi relativamente curto. Além disso, a polpa da mandioca não é tão porosa para facilitar a penetração da solução nas camadas mais internas, pois trata-se de um tratamento de superfície e, por último a etapa de centrifugação retira o excesso de água/solução adsorvida pelos pedaços de mandioca durante a imersão na solução antioxidante.

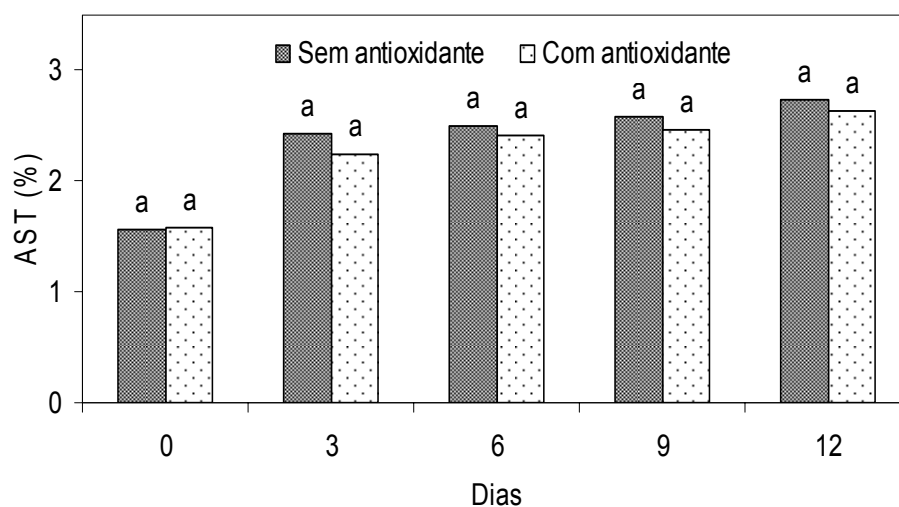
Segundo (Kader, 1986) esse comportamento de elevação do pH tem sido notado em muitos produtos minimamente processados, porém ainda não se tem certeza dos mecanismos. Especula-se, que seja devido à eliminação do CO<sub>2</sub> diretamente do interior do tecido para o vacúolo ou para o ambiente e, tendo como consequência a diminuição da acidificação promovida pelo CO<sub>2</sub>.

Outra possibilidade para aumento no pH, pode estar relacionada ao consumo dos ácidos orgânicos no processo respiratório, pois os ácidos são os primeiros compostos a serem utilizados como substrato na respiração, por estarem mais prontamente disponíveis (Bender, 1986; Chitarra e Chitarra, 2007).

O pH variou de 5,8 a 6,5 e 5,8 a 6,4 para os tratamentos sem e com antioxidante, respectivamente. Estando dentro da faixa sugerida por Adams (1991), pois o pH considerado adequado para manter a qualidade de vegetais minimamente processados deve ficar na faixa de 5 a 6,5.

### **3.2. Açúcares solúveis totais**

Nos teores de açúcares solúveis totais (AST) não houve diferença entre os tratamentos em nenhum dos tempos de avaliação (Figura 2). Entre a avaliação inicial e a avaliação do terceiro dia houve aumento de aproximadamente 55 e 40 % para os tratamentos sem e com antioxidante, respectivamente. No tratamento sem antioxidante houve aumento 70 % no teor de AST durante o período de conservação. O teor de AST nos pedaços de mandioca tratados com antioxidante apresentou variação de 65 % durante os 12 dias de conservação.



**Figura 2.** Teor de açúcares solúveis totais (AST) (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

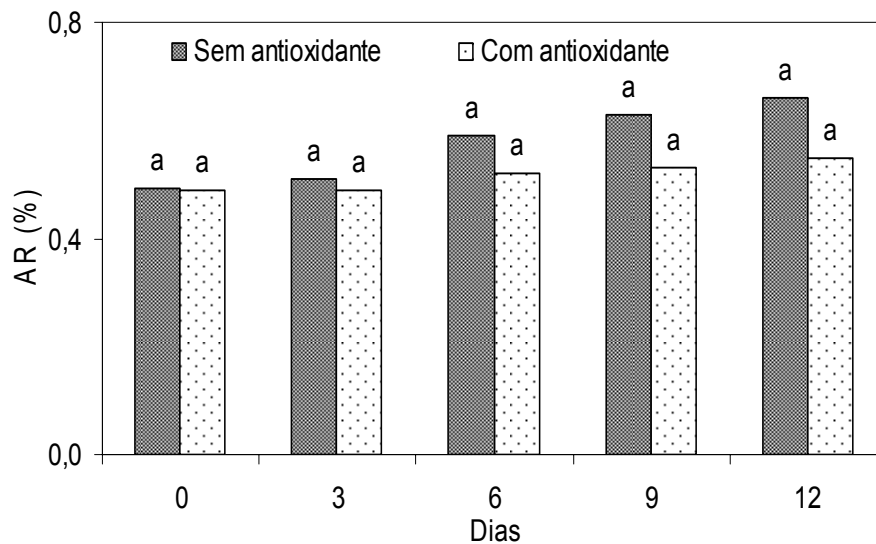
Pineli, *et al.* (2005a) encontraram aumento no teor de AST em batatas “Ágata” minimamente processadas e tratadas com ácido cítrico, durante o período de armazenamento. Bezerra *et al.* (2002) também verificaram aumento nos teores de AST em mandioca “Baianinha” minimamente processada. Grossi *et al.* (2004) observaram aumento nos glicídios totais, na cv. Saracura, durante o armazenamento das raízes em condições ambientais. Geralmente, o acréscimo nos açúcares solúveis totais é decorrente do aumento nos teores de açúcares redutores (glicose) e não-redutores (sacarose) resultado da hidrólise do amido.

### 3.3. Açúcares redutores

Os tratamentos sem e com antioxidantes não diferiram entre si em nenhum dos tempos de conservação (Figura 3). No tratamento sem antioxidante, embora sem diferença, o teor de AR apresentou tendência a valores maiores que o tratamento com antioxidante, especialmente aos 6, 9 e 12 dias de conservação.

No tratamento sem antioxidante, a variação no teor de AR foi de 35 % ao longo do período de conservação, apresentando aumento médio de 7 % em cada

tempo de avaliação. Para o tratamento com antioxidante, o teor de AR mostrou comportamento semelhante ao tratamento sem antioxidante, porém com variação muito tênue de 12 %, entre o início e o fim do período de conservação, cujos teores aumentaram em torno de 3 % em cada tempo de avaliação.



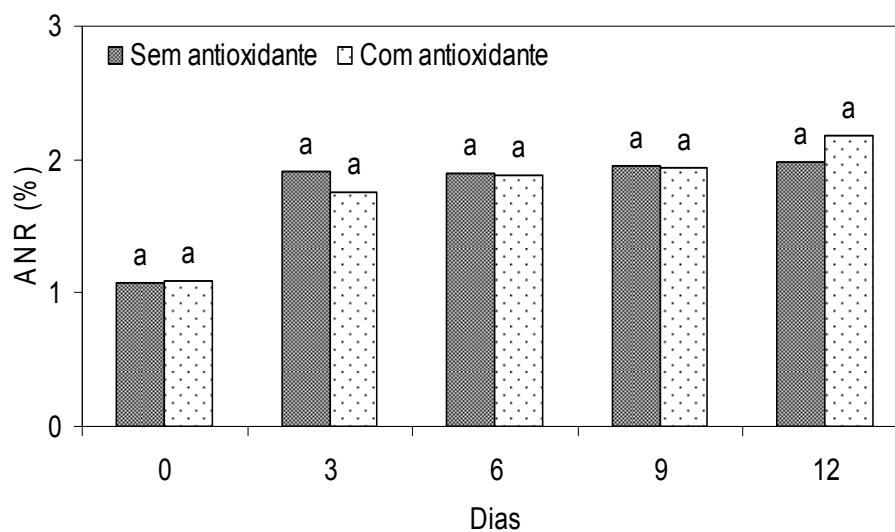
**Figura 3.** Teor de açúcares redutores (AR) (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

Esses resultados estão de acordo com os relatados por Bezerra *et al.* (2002) onde o teor de AR aumentou durante o período de conservação. Em condições de baixa temperatura ocorre o acúmulo de ATP nos tecidos vegetais, podendo acarretar a ativação da via alternativa, conhecida como alternativa oxidase, que diminui os níveis de ATP e, simultaneamente incrementa as concentrações de sacarose, provavelmente via fosforilase. A sacarose torna-se substrato para a invertase ácida vacuolar, que originará acúmulo de açúcares redutores (Isherwood, 1973).

### 3.4. Açúcares não-redutores

O teor de açúcares não-redutores (ANR) apresentou comportamento

semelhante ao teor de AST (Figura 4). No tratamento sem antioxidante, entre a avaliação inicial e o terceiro dia, houve aumento de aproximadamente 80 % nos teores de ANR. Entre o primeiro e o terceiro dia, o teor de ANR aumentou aproximadamente 70 % e permaneceu praticamente constante até o décimo segundo dia de conservação. No tratamento com antioxidante, houve aumento de 60 % do início até o terceiro dia de conservação. Entre o terceiro e o nono dia apresentou aumento médio de 5 % nos teores de ANR. No décimo segundo dia de conservação, aumentou pouco mais de 10 %.

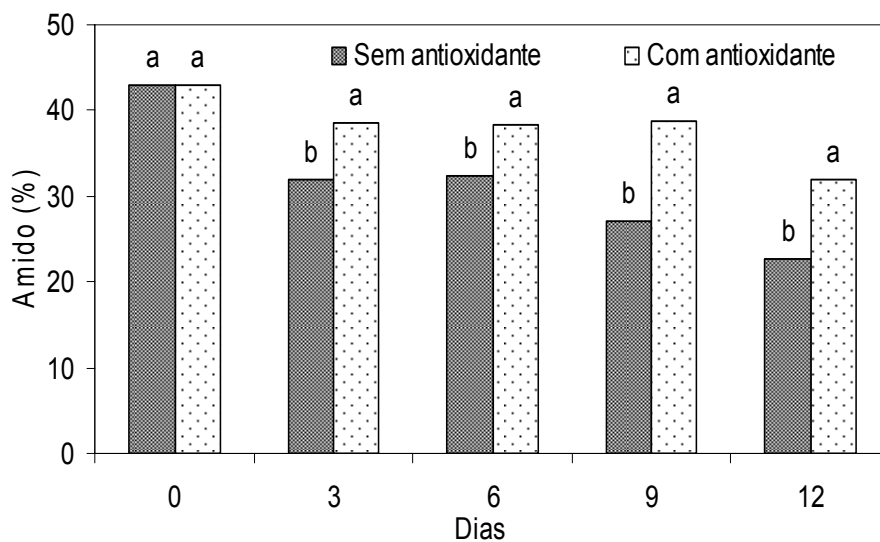


**Figura 4.** Teor de açúcares não-redutores (ANR) (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

Bezerra *et al.* (2002) observaram aumento nos açúcares não-redutores no início do período de conservação, variando de forma crescente até o sétimo dia, após esse período, houve redução no teor de ANR, em mandioca cv. Baianinha. Segundo Carvalho *et al.* (1982) esse incremento inicial nos teores de ANR pode ser atribuído à hidrólise de polissacarídeos insolúveis, principalmente do amido a açúcares solúveis propiciando síntese de sacarose, que será hidrolisada, promovendo aumento nos teores de AR.

### 3.5. Teores de amido

O teor de amido apresentou decréscimo ao longo do período de conservação. Essa redução foi mais acentuada no tratamento sem antioxidante (Figura 5). Nos tempos de avaliação 3, 6, 9 e 12 dias, o teor de amido apresentou diferença entre os tratamentos, com exceção da avaliação inicial. No tratamento sem antioxidante, o teor de amido reduziu 25 % no terceiro dia, permaneceu constante até o sexto dia, decrescendo em torno de 30 % até o final do período de conservação. No tratamento com antioxidante, o teor de amido reduziu 10 % até o terceiro dia, permanecendo estável até o nono dia, voltando a reduzir em torno de 17 % aos 12 dias de conservação.



**Figura 5.** Teor de amido (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

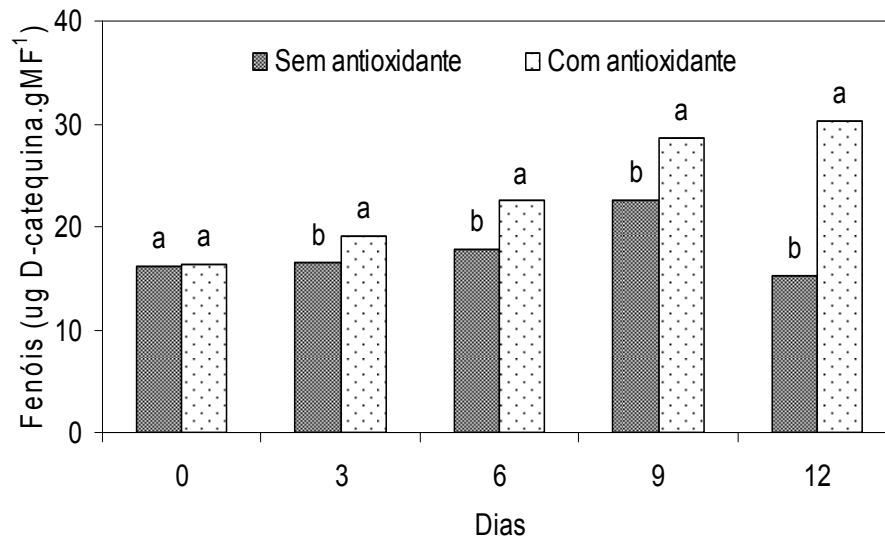
Os teores de amido apresentaram redução de 47 e 25 % para os tratamentos sem e com antioxidante, respectivamente, durante o período de conservação, sendo superiores aos encontrados por Bezerra *et al.* (2002) os quais verificaram redução de 15 % no teor de amido em mandioca minimamente processada da cv. Baianinha, durante o tempo de armazenamento. A maioria das

células vegetais tem a habilidade de sintetizar amido, porém ele é extremamente abundante em alguns órgãos, como tubérculos e raízes. Além disso, o avanço da maturação promove a conversão de maior parte dos açúcares livres em amido (Kays, 1991).

Segundo Nourian *et al.* (2003) a degradação do amido ocorre rapidamente com a diminuição da temperatura, enquanto que a variação nos teores de açúcares solúveis totais e redutores está diretamente relacionada com o tempo de armazenamento. Geralmente, os teores de amido diminuem e os de açúcares solúveis totais aumentam com o decorrer do armazenamento (Maini e Balagopal, 1978).

### 3.6. Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais apresentaram comportamento semelhante até nove dias de conservação. O tratamento com antioxidante apresentou valores superiores em relação ao tratamento sem antioxidante, sendo que do terceiro ao décimo segundo dia de conservação, houve diferença entre os tratamentos (Figura 6).



**Figura 6.** Compostos fenólicos totais em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

No tratamento sem antioxidante, o valor de compostos fenólicos apresentou variação menor que 10 % até o sexto dia e, entre o sexto e o nono dia de conservação, houve acréscimo de 27 %. Em seguida ocorreu redução, chegando ao final do período de conservação com queda de 30 % em relação aos nove dias.

No tratamento com antioxidante, houve acréscimo de 16 % entre a avaliação inicial e os três primeiros dias de conservação. Na avaliação do sexto dia de conservação, o conteúdo de compostos fenólicos aumentou 18 % em relação à avaliação anterior. Do sexto ao nono dia, aumentou mais 27% no conteúdo de compostos fenólicos. Aos 12 dias de conservação, houve novamente um acréscimo de 5% em relação aos nove dias.

Campos e Carvalho (1990) observaram aumento nos fenóis no início do período de conservação com posterior redução, aos sete dias de conservação, em raízes de mandioca das cultivares IAC 12829, Guaxupé e Sonora.

Esses aumentos iniciais nos compostos fenólicos podem ser devido à hidroxilação de monofenóis e, os decréscimos, a oxidação de difenóis, ambas as reações acontecem pela ação da enzima polifenoloxidase, sendo a quinona o produto da oxidação. No ponto onde a atividade da enzima começa a decrescer, ocorre simultaneamente o decréscimo dos substratos. Segundo Rickard (1985) a ação da polifenoloxidase se processa da seguinte maneira: hidroxilação de monofenóis a O-difenóis e oxidação destes O-difenóis para quinonas.

O conteúdo de compostos fenólicos diminuiu no final do período de conservação no tratamento sem antioxidante, provavelmente porque foram consumidos pelas enzimas oxidativas. A maior concentração foi observada aos nove dias de conservação. Rickard (1985) avaliando o desenvolvimento de DFP em raízes de mandioca, encontrou a maior concentração de compostos fenólicos aos 6 dias de conservação a 25 °C. Essa diferença de tempo, três dias, pode ser atribuída à diferença de temperatura de conservação.

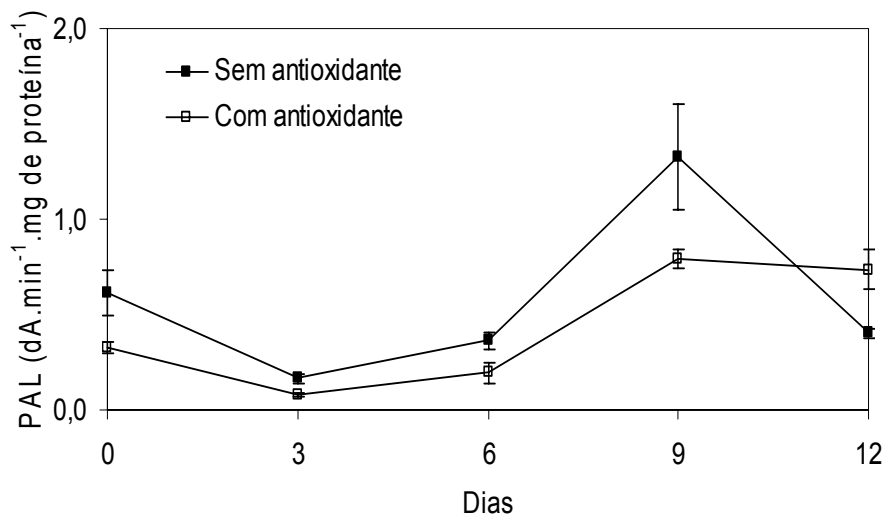
No tratamento com antioxidante, os compostos fenólicos aumentaram até o final do período de conservação. Esse comportamento pode ser devido a menor atividade das enzimas PPO e POD e, portanto, menor utilização de substrato. O ácido ascórbico é fator importante na prevenção do escurecimento enzimático de tecidos vegetais graças ao seu extraordinário poder redutor, pois ao se oxidar,

reduz quinonas produzidas pela ação enzimática a compostos fenólicos, transformando-se em ácido deidroascórbico. Assim, enquanto teores adequados da forma não oxidada do ácido ascórbico forem mantidos, o escurecimento será prevenido (Martinez e Whitaker, 1995).

Tanaka *et al.* (1983) mencionaram que a mudança no conteúdo de fenólicos aliada aos incrementos na atividade realçada da PAL observada em mandioca indicam que os aumentos em compostos fenólicos são pelo menos em parte devido à síntese *de novo*.

### 3.7. Atividade da enzima fenilalanina amônia liase

A enzima fenilalanina amônia liase (PAL) apresentou comportamento similar entre os dois tratamentos, com atividade enzimática menor no tratamento com antioxidante, com exceção do décimo segundo dia, em que a redução no tratamento com antioxidante foi mínima (Figura 7).



**Figura 7.** Atividade da fenilalanina amônia liase em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias. As barras representam o erro padrão da média.

No tratamento sem antioxidante houve redução de 70 % na atividade da

PAL, entre o início e três dias de conservação. Aos seis e nove dias, houve acréscimo de 120 e 260 % na atividade da PAL, respectivamente. Aos doze dias, a atividade da PAL reduziu 70 % em relação à avaliação anterior.

O tratamento com antioxidante apresentou redução de 75 % na atividade da PAL, no terceiro dia de conservação. No sexto e nono dia, a atividade aumentou 150 e 300%, respectivamente, sempre considerando a avaliação anterior e, caindo pouco menos de 10% ao final do período de conservação em relação à avaliação do nono dia.

A PAL apresentou pico na atividade, em ambos os tratamentos, aos nove dias de conservação, semelhantemente ao verificado em minicenouras (Simões, 2008). Rickard (1985) observou esse pico na atividade das raízes de mandioca, aos três dias de armazenamento em temperatura ambiente, comprovando o efeito da baixa temperatura sobre a atividade enzimática. Cantos *et al.* (2002) encontraram pico na atividade da PAL, aos quatro dias de conservação, em cinco cultivares de batatas minimamente processadas.

Essa diferença de atividade parece estar associada ao efeito indireto dos antioxidantes ácidos, ou seja, a diminuição no pH, pois essa enzima apresenta boa atividade em pH próximo a oito (Limbo e Piergiovanni, 2006).

Comparando-se os resultados encontrados para compostos fenólicos e os da PAL (Figuras 6 e 7), pode-se observar que houve comportamento semelhante, inclusive quanto ao pico aos nove dias, isso pode ser explicado pelo fato da PAL ser considerada enzima chave na rota do metabolismo dos fenilpropanóides (Beeching *et al.*, 1994), pois converte a L-fenilalanina em ácido transcinâmico e, a partir desse composto são produzidos diversos fenilpropanóides via uma série de reações de hidroxilação, metilação e desidratação (Dixon e Paiva, 1995). Segundo Roura *et al.* (2008), o ácido ascórbico como antioxidante pode reduzir a oxidação de compostos fenólicos induzidos pelo fermento, mas não pode prevenir ou reduzir a síntese ou o acúmulo de compostos fenólicos mediados pela PAL.

### **3.8. Atividade da enzima polifenoloxidase**

Em testes preliminares foram avaliados três compostos fenólicos, ácido

clorogênico, catequina e catecol como substrato para a PPO (Tabela 2). A catequina (0,1M) e o catecol (0,2M) apresentaram afinidades muito próximas, porém menores que o ácido clorogênico. No entanto, a catequina apresentou precipitação nessa concentração e, em concentrações menores a atividade da PPO foi muito baixa. O ácido clorogênico apresentou oxidação muito rápida, mesmo quando protegido da luz. O catecol na concentração de 0,1M apresentou baixa atividade da PPO. Assim sendo, o catecol (0,2M) foi utilizado como substrato para a PPO.

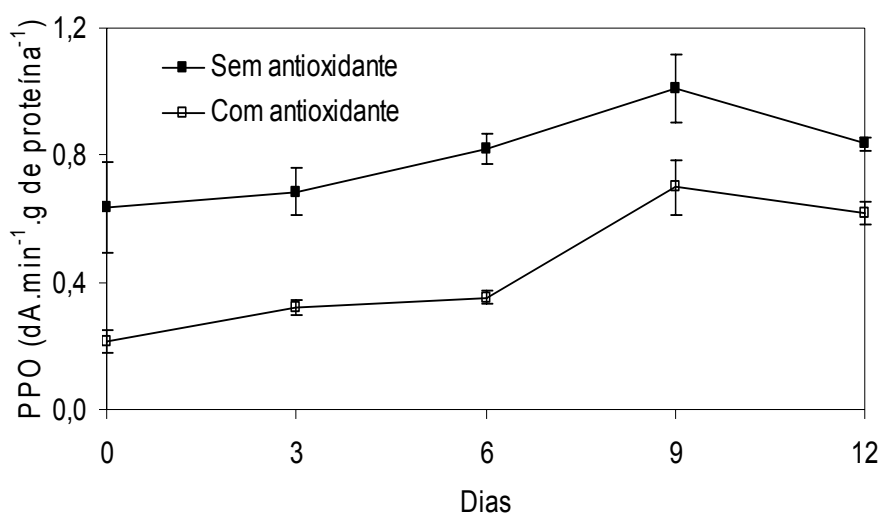
**Tabela 2.** Atividade da polifenoloxidase de raízes de mandioca em diferentes substratos

Substrato	Concentração (M)	Atividade (dA.min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> Proteína)
Ácido clorogênico	0,1	1,326
Catequina	0,05	0,12
Catequina	0,1	0,68
Catecol	0,1	0,23
Catecol	0,2	0,71

A polifenoloxidase (PPO) apresentou maior atividade aos nove dias de conservação, seguida de redução aos 12 dias. Esse comportamento foi observado tanto no tratamento com antioxidante como no sem antioxidante, apresentando apenas diferença na amplitude das curvas de atividade (Figura 8).

No tratamento sem antioxidante, aos três dias de conservação a PPO apresentou aumento de menos de 10 % na atividade. Do terceiro ao sexto dia de conservação, o aumento foi de aproximadamente 50 % e, aos 12 dias de conservação, houve redução de 17 % na sua atividade em relação aos nove dias.

No tratamento com antioxidante, ocorreu aumento de 50 % na atividade aos três dias de conservação. No sexto dia, houve aumento na atividade de apenas 10 % em relação ao terceiro dia, voltando a aumentar acentuadamente quase 100 % aos nove dias e, no final do período, houve redução de 10 % na sua atividade em relação à avaliação anterior.



**Figura 8.** Atividade da polifenoloxidase em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias. As barras representam o erro padrão da média.

Pineli *et al.* (2005a) observaram que a combinação de ácido cítrico (2 %) e ácido eritórbico (3 %) promoveu aumento na atividade da PPO de aproximadamente 18 % do terceiro para o sexto dia, apresentando maior atividade da PPO no nono dia de armazenamento, em batatas 'Ágata' minimamente processadas. Esses resultados corroboram com os encontrados nesse trabalho.

O aumento da atividade da PPO aos nove dias de conservação está associado à maior disposição na concentração de compostos fenólicos, os quais são substratos para essa enzima. Kato *et al.* (1991) observaram aumento da atividade da PPO, sendo que, aos sete dias de armazenamento, a atividade apresentou o dobro do valor inicial em raízes de mandioca armazenadas à temperatura ambiente.

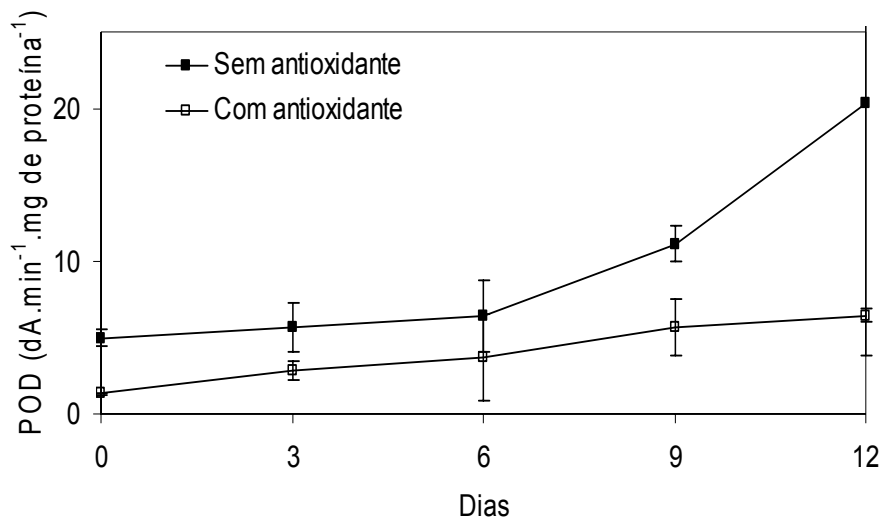
No tratamento sem antioxidante, a PPO apresentou redução na atividade aos nove dias de conservação, essa queda está associada à redução nos compostos fenólicos (Figura 6). A PPO é uma enzima chave associada com a deterioração fisiológica pós-colheita, pois com o rompimento dos tecidos por danos mecânicos, a polifenoloxidase atua oxidativamente sobre o substrato

disponível, acelerando o escurecimento e, conseqüentemente a deterioração (Balagopalan e Padmaja, 1994).

Bezerra *et al.* (2002) relataram que a atividade da PPO apresentou atividade máxima aos 18 dias de armazenamento, em mandiocas branqueadas, contra nove dias nas não branqueadas, após esse período a atividade começou a decrescer.

### 3.9. Atividade da enzima peroxidase

A atividade da peroxidase (POD) aumentou linearmente até o sexto dia de conservação, de maneira semelhante, apresentando comportamento crescente em ambos os tratamentos (Figura 9).



**Figura 9** Atividade da peroxidase em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias. As barras representam o erro padrão da média.

No tratamento sem antioxidante, atividade da POD aumentou quase que linearmente até o sexto dia de conservação, com aumento de 30 %. Do sexto para o nono dia, houve aumento na atividade de 73 % e, do nono para o décimo segundo dia, o aumento foi de 80 %. Do início ao fim do período de

conservação o aumento foi superior a 300 % na atividade da POD.

No tratamento com antioxidante, a atividade da POD aumentou 120 % no terceiro dia, em relação ao início do período de conservação. No sexto e nono dia o aumento da atividade foi de 30 e 50 %, respectivamente. Após esse período, a atividade começou estabilizar, com incremento de 13 % no final do período de conservação.

O comportamento da atividade da POD no tratamento com antioxidante está de acordo com o comportamento apresentado pelos compostos fenólicos, aos nove dias, pois a concentração dos mesmos começa a cair, reduzindo assim, a velocidade de reação da POD.

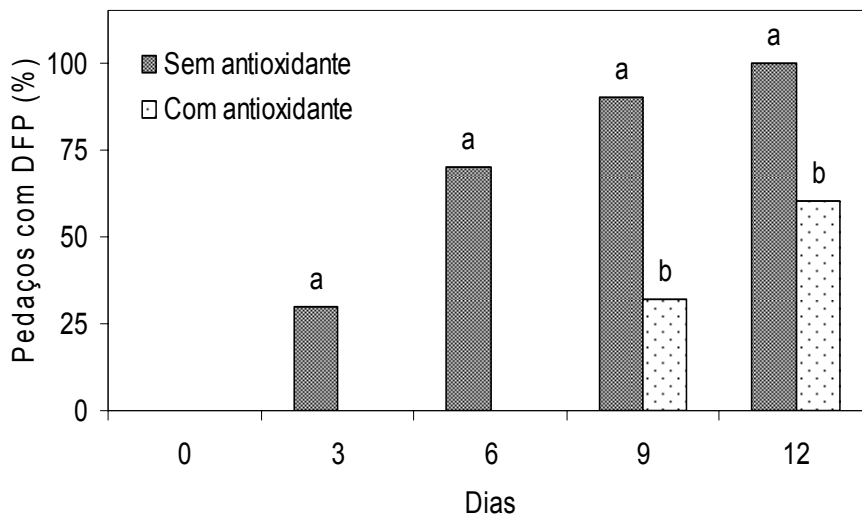
No tratamento sem antioxidante, ocorreu aumento da atividade da POD entre os nove e doze dias de conservação, em função da maior disponibilidade de substrato, de acordo com a Figura 6, pois nesse período, houve redução na concentração dos compostos fenólicos. Esse comportamento também foi observado por Campos e Carvalho (1990) em raízes de mandioca armazenadas a temperatura ambiente. Margot *et al.* (1978) citado por Campos e Carvalho (1990) associam esse aumento na atividade da peroxidase à biossíntese de lignina, como resposta da injúria aos tecidos vegetais utilizando como substrato numerosos compostos fenólicos presentes nos tecidos das plantas. Pineli *et al.* (2005b) observaram redução na concentração de fenólicos e na atividade da PPO concomitantemente ao aumento da POD e, associou esse comportamento a função primeira da POD, que seria a de proteção dos tecidos injuriados contra infecção microbiana.

Vários autores associam a indução da atividade da POD como fenômeno natural em respostas a situações de estresse, como danos mecânicos e infecção por patógenos (Plumbley e Rickard, 1981; Rickard, 1981; Cantos *et al.*, 2002;) e efeitos tóxicos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formada durante o metabolismo celular (Bezerra *et al.*, 2002).

Os resultados aqui apresentados tiveram comportamento diferente daqueles encontrados por Kato *et al.* (1991), em que a atividade da POD aumentou até o sétimo dia e depois caiu linearmente até o final do armazenamento de raízes de mandioca.

### 3.10. Incidência de deterioração fisiológica pós-colheita

A incidência de deterioração fisiológica pós-colheita (DFP) foi diferente entre os tratamentos sem e com antioxidante (Figura 10). No tratamento sem antioxidante os sintomas iniciaram aos três dias de conservação, apresentando 30 % de incidência. Aos seis dias, houve acréscimo de 130 % DFP. Aos nove dias, a incidência de DFP aumentou aproximadamente 30 % em relação à avaliação anterior e, no final do período de conservação, todos os pedaços de mandioca minimamente processada apresentavam sintomas de DFP.



**Figura 10.** Incidência de deterioração fisiológica pós-colheita (DFP) (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

No tratamento com antioxidante, os sintomas de DFP iniciaram-se aos nove dias de conservação, com aproximadamente 30 % de incidência e, aos 12 dias aumentou para aproximadamente 90 % de incidência em relação à avaliação anterior.

Com base nos resultados, pode-se afirmar que a combinação dos ácidos ascórbico e cítrico (3 %) na proporção de 2:1, controlou a DFP até seis dias de conservação. Esse período pode parecer curto, mas tratando-se de mandioca,

produto de alta perecibilidade, o ganho é satisfatório na conservação. Em raízes inteiras, com injúrias apenas da colheita e transporte, mantidas em temperatura ambiente, a presença dos sintomas é observada entre 24 e 72 h (Booth, 1976; Rickard, 1985; Beeching *et al.*, 1994; Cereda e Vilpoux, 2003). Guimarães *et al.* (2002) verificaram que o escurecimento das raízes de mandioca foi de 15 e 25 %, no sexto e oitavo dia, respectivamente.

A redução na incidência de DFP, não está associada somente ao efeito dos agentes antioxidantes, mas sim, a uma combinação de fatores como baixa temperatura na conservação e atmosfera modificada otimizada, proporcionada pela taxa de permeabilidade a gases e ao vapor d'água (Cereda e Vilpoux, 2003; Grossi *et al.*, 2004).

Analisando a incidência de DFP em relação à atividade das enzimas PAL, PPO e POD, durante o período de conservação, apenas a POD apresenta relação com a DFP, ou seja, a atividade apresentou o mesmo comportamento da incidência de DFP. Há controvérsia entre vários autores sobre a influência das enzimas PAL, PPO e POD sobre o desenvolvimento da DFP.

Booth (1976), Padmaja *et al.* (1982) e Data *et al.* (1984) demonstraram que a atividade da PPO aumentou com o desenvolvimento da DFP e, que os polifenóis podem se oxidar a quinonas e estas podem formar complexo colorido com aminoácidos e proteínas ocasionando DFP. Wang *et al.* (1983) concluíram não haver correlação entre a atividade da PPO e o escurecimento enzimático. Carvalho *et al.* (1982) e Uritani *et al.* (1999) atribuíram a DFP a capacidade oxidativa da POD. Para outros como Rickard e Gahan, (1983) e Kato *et al.* (1991) a deterioração fisiológica está estreitamente relacionada com as mudanças oxidativas das substâncias fenólicas e com as enzimas envolvidas na oxidação desses compostos, como a PPO e a POD.

Segundo Pineli *et al.* (2005a), a PPO está mais relacionada ao escurecimento enzimático de batatas minimamente processadas que a POD, embora essa apresente maior atividade, pois está diretamente ligada ao processo de formação de periderme.

Analisando os resultados da incidência de DFP, verificou-se que os antioxidantes, ácidos ascórbico e cítrico, apresentaram efeito não só no controle, mas principalmente na intensidade do sintoma de DFP. Os pedaços de mandioca

que foram tratados com a combinação dos ácidos ascórbico e cítrico apresentaram os sintomas bem menos intensos que os não tratados, durante o período de conservação. As três enzimas estudadas apresentaram menor atividade nos tratamentos com antioxidantes, isso pode ser atribuído ao abaixamento do pH promovido pelos ácidos ascórbico e cítrico. Pineli *et al.* (2005a) também observaram que o uso de antioxidantes ácidos promoveu o abaixamento do pH, reduzindo a atividade das enzimas associadas ao escurecimento enzimático.

O uso dos antioxidantes ácido ascórbico e ácido cítrico associado ao acondicionamento em embalagem com atmosfera modificada, protelou o desenvolvimento de DFP para seis dias. Comparando a incidência de DFP com o comportamento da atmosfera no interior da embalagem de polipropileno, no capítulo 2, nota-se que os níveis de O<sub>2</sub> caíram para menos de 10 % a partir dos três dias de conservação, chegando a uma atmosfera interna com níveis próximos a 5 % O<sub>2</sub> e 8 % CO<sub>2</sub>, aos nove dias de conservação. Segundo Kader e Watkins (2000) em atmosferas com baixos teores de O<sub>2</sub>, a quebra do ácido ascórbico é inibida, reduzindo a sua oxidação a ácido deidroascórbico, por causa da redução na atividade da ácido ascórbico oxidase. Assim, a redução de o-quinonas aos fenólicos que lhe deram origem ficou comprometida e o escurecimento do tecido inevitável (Chitarra e Chitarra, 2007). Também o baixo teor de O<sub>2</sub> reduz a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase (Abe e Watada, 1991).

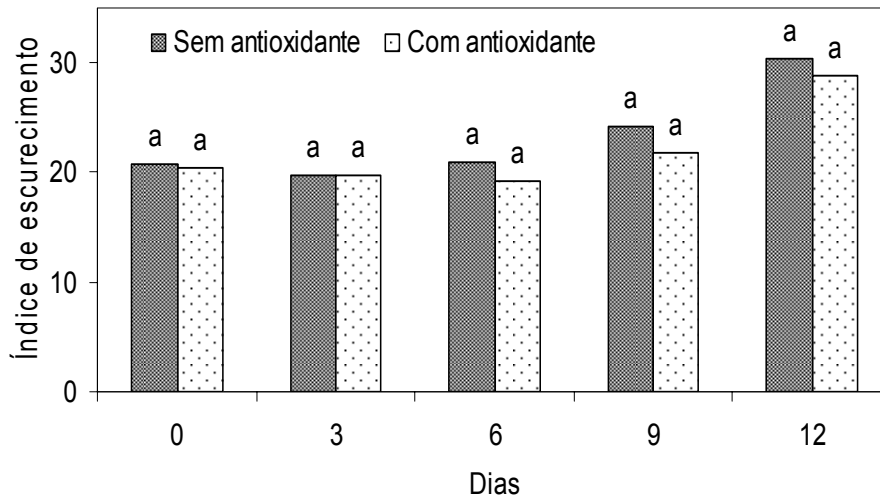
### **3.11. Índice de escurecimento**

Nos tempos de avaliação zero e três dias não houve diferença no índice de escurecimento (IE) em relação aos tratamentos. Nessa avaliação o IE foi em torno de 20 e foi considerado como referencial para determinar a variação ao longo do período de conservação (Figura 11).

No sexto dia de conservação apenas os pedaços de mandioca sem tratamento antioxidante apresentaram aumento 5 % no valor do IE.

A avaliação dos pedaços de mandioca aos nove dias de conservação, sem e com tratamento antioxidante apresentaram comportamento similar, com

aumento em torno de 15 % no IE. No décimo segundo dia de conservação, o IE comportou-se de maneira similar a avaliação anterior, com aumento de 25 e 30 % nos tratamentos sem e com antioxidante, respectivamente.



**Figura 11.** Índice de escurecimento em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

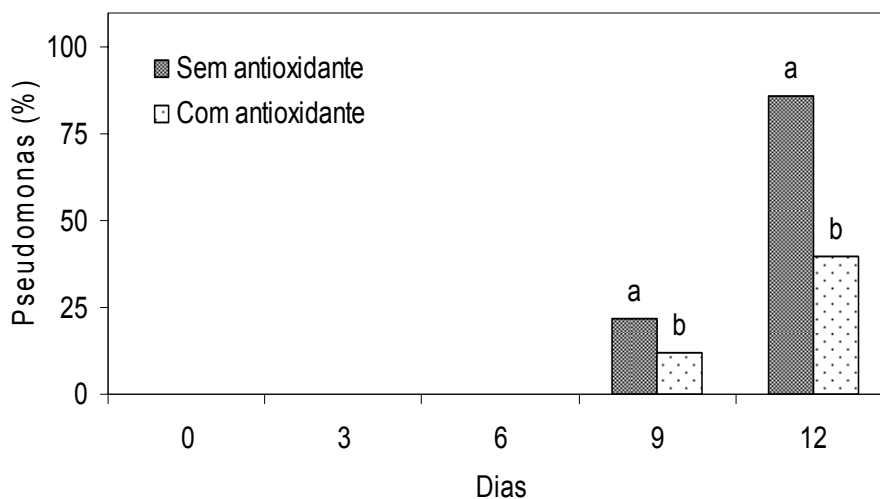
O IE variou em torno de 45 % entre o início e o final do período de conservação, no tratamento sem antioxidante. No tratamento com antioxidante a variação foi de 40 %. Cantos *et al.* (2002) avaliaram o efeito do processamento mínimo de batata sobre a atividade das enzimas PPO, POD e PAL e, também sobre os compostos fenólicos e, não encontraram nenhuma correlação significativa entre essas enzimas e o índice de escurecimento. Segundo Pineli *et al.* (2005b) o tratamento com maior atividade da polifenoloxidase não apresentou o maior índice de escurecimento durante o armazenamento.

O aumento observado no IE dos pedaços de mandioca minimamente processada, a partir do nono dia de conservação, está relacionado com o início do aparecimento dos sintomas de *Pseudomonas* sp. (Figura 12). Esse comportamento foi notado em muitos experimentos preliminares, em que a avaliação visual da DFP e a leitura da cor com o colorímetro ficaram

comprometidas em função do desenvolvimento dos sintomas de *Pseudomonas* sp., o qual muitas vezes havia se desenvolvido por toda a superfície dos pedaços de mandioca.

### 3.12. Incidência de *Pseudomonas* sp.

Os sintomas de *Pseudomonas* sp. iniciaram aos nove dias de conservação em ambos os tratamentos (Figura 12). Os pedaços de mandioca submetidos ao tratamento com antioxidantes apresentaram redução de aproximadamente 50 % na quantidade de pedaços com sintomas em relação aos não tratados. Essa redução pode ser associada ao abaixamento do pH, promovido pelos antioxidantes. Em experimentos preliminares, notou-se que sempre que o ácido cítrico estava presente no tratamento antioxidante o desenvolvimento de *Pseudomonas* sp. era menor. Talvez esteja nesse ponto, a principal justificativa para o uso combinado dos ácidos cítrico e ascórbico, pois o ácido cítrico aplicado isoladamente não teve muito efeito na redução da incidência de DFP, conforme pode ser verificado no item 3.1.2 do capítulo 1.

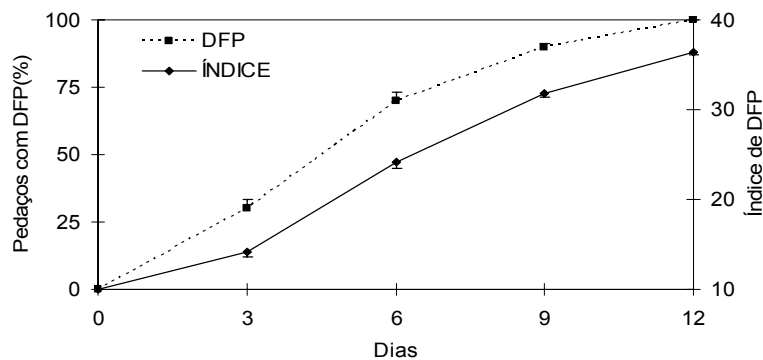


**Figura 12.** Incidência de *Pseudomonas* sp. (%) em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com ácido ascórbico e ácido cítrico (3%) na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias.

Segundo Brackett (1989) o desenvolvimento de microorganismos em alimentos frescos pode ser controlado pelo uso de baixas temperaturas, acidez do meio e atmosfera modificada, nem tanto pela restrição de O<sub>2</sub> e sim pelo efeito do CO<sub>2</sub>. No caso de *Pseudomonas* sp., um microorganismo psicotrófico, a baixa temperatura não tem muito efeito sobre o seu crescimento, pois o seu desenvolvimento se dá sob refrigeração (Brackett, 1989; Vanetti, 2008).

### 3.12. Índice de deterioração fisiológica pós-colheita

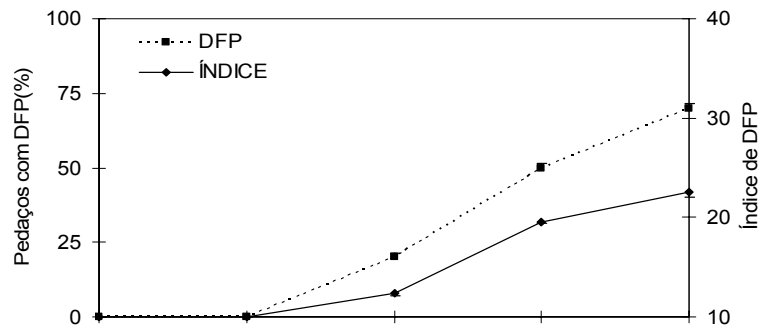
Os resultados do índice de deterioração fisiológica pós-colheita IDFP, são mostrados nas Figuras 13 e 14. Na mesma figura estão os resultados da incidência de DFP para análise paralela, visando melhor entendimento do índice.



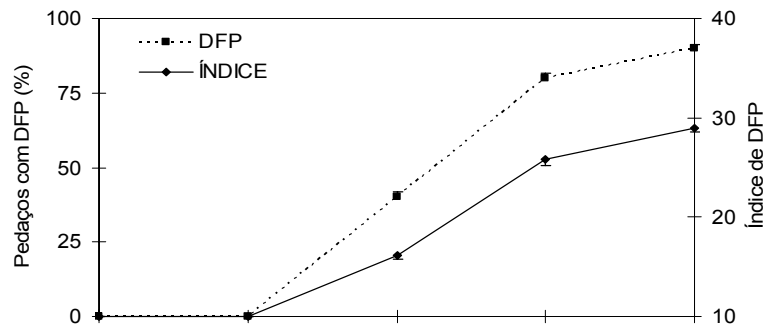
**Figura 13.** Índice de escurecimento em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, sem tratamento antioxidante, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias. As barras representam o erro padrão da média.

O índice de deterioração fisiológica pós-colheita varia de 10 a 40. O valor mínimo que o índice pode atingir é 10, nesse ponto todos os pedaços de mandioca estão com ausência dos sintomas de DFP. No valor máximo o IDFP chega a 40, nesse ponto todos os pedaços de mandioca apresentam os sintomas de DFP e, a intensidade dos sintomas, ou seja, a superfície do pedaço de mandioca com sintoma é superior a 60 %. Quanto menor IDFP melhor a qualidade visual da mandioca minimamente processada.

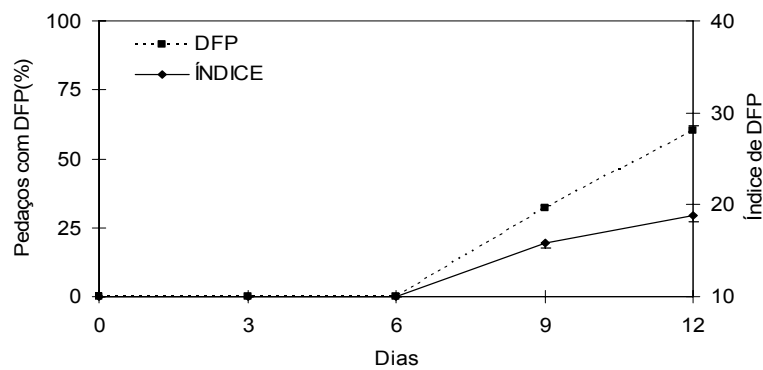
(a)



(b)



(c)



**Figura 14.** Índice de escurecimento em mandioca minimamente processada, cv. Cacauzinha, tratada com: (a) ácido ascórbico (3%); (b) ácido cítrico (3%); (c) ácido ascórbico + ácido cítrico na proporção de 2:1, embaladas em polipropileno e conservadas a  $8 \pm 2$  °C e  $90 \pm 5$  % UR por 12 dias. As barras representam o erro padrão da média.

No tratamento controle (Figura 13) o IDFP variou de 10 a 36,4, sendo esse valor superior ao índice determinado para os tratamentos com ácido ascórbico (10 a 22,6), ácido cítrico (10 a 29) e a combinação de ambos na proporção de 2:1 (10 a 18,8), essa variação foi de 60, 25 e 90 %, respectivamente.

Ordenando os tratamentos na ordem decrescente em função do IDFP, tem-se tratamento controle, tratamento com ácido cítrico, tratamento com ácido ascórbico e por último o tratamento com a combinação dos dois antioxidantes, a qual promoveu IDFP menor que a utilização deles individualmente.

Analisando a Figura 14c, o IDFP apresentou valor menor que 20, observando-se a incidência de DFP paralelamente, 60 % dos toletes apresentaram sintomas, sendo seis deles com nota 4 (dados não mostrados), ou seja, com mais de 61 % da superfície tomada pelas estrias cinza-azuladas da deterioração fisiológica pós-colheita.

O índice de deterioração fisiológica pós-colheita no valor 20, poderia ser considerado como ponto de corte e, teoricamente apresentaria qualidade para comercialização e consumo. Porém, na prática esse valor não pode ser fixado em 20, pois as combinações possíveis entre a presença e a intensidade do sintoma dentro da embalagem são muito variáveis. Por exemplo, a presença de apenas um pedaço de mandioca com sintoma avançado, é o suficiente para os consumidores recusarem a embalagem inteira. No entanto, quando se determina o IDFP esse valor fica abaixo de 20, porque são levados em consideração todos os toletes da embalagem. Em virtude disso, conclui-se que o IDFP é seguro somente quando utilizado para classificar os pedaços de mandioca individualmente. Quando a avaliação é extrapolada para uma população, como embalagem toda, o índice perde sua aplicabilidade e deixa de ser confiável.

#### 4. CONCLUSÕES

- Ocorreu redução nos teores de amido e aumento nos teores de açúcares redutores na mandioca minimamente processada, durante os 12 dias de conservação;
- A combinação dos antioxidantes ácido ascórbico e ácido cítrico (3 %) na proporção de 2:1, proporcionou menores valores de pH; teores de açúcares solúveis totais e redutores; atividade das enzimas fenilalanina amônia liase, polifenoloxidase e peroxidase; índice de escurecimento e incidência de deterioração fisiológica pós-colheita e *Pseudomonas* sp.;
- Os teores de amido e o conteúdo de compostos fenólicos foram maiores no tratamento com os antioxidantes;
- A combinação dos ácidos ascórbico e cítrico retardou a deterioração fisiológica pós-colheita até seis dias de conservação;
- A menor incidência de deterioração fisiológica pós-colheita nos pedaços de mandioca tratados com antioxidantes em relação aos não tratados, deve-se ao efeito combinado dos ácidos ascórbico e cítrico com a atmosfera modificada promovida pela embalagem de polipropileno;
- O índice de deterioração fisiológica pós-colheita tem aplicabilidade na classificação dos toletes individualmente, não sendo indicada para a embalagem como um todo;
- A combinação dos ácidos ascórbico e cítrico não apresentou controle sobre o desenvolvimento de *Pseudomonas* sp. após seis dias de conservação;

- Os pedaços de mandioca minimamente processada, tratados com os ácidos ascórbico e cítrico, 3 % (2:1) e, embalados em polipropileno apresentaram condições de consumo até seis dias de conservação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abe, K.; Watada, A.E. Ethylene absorbent to maintain quality of lightly processed fruits and vegetables. **Journal Food Science**. 56:1493-1496, 1991.

Alves, A.; Cansian, R. L.; Stuart, G.; Valduga, E. Alterações na qualidade de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) minimamente processadas. **Ciência Agrotécnica**. 29:330-337, 2005.

Araújo, S. A. Escurecimento enzimático em alimentos. Boletim Técnico. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. v. 231, 14p., 1990.

Arruda, M. C.; Jacomino, A. P.; Sarantopoulos, C. I. G. L. Qualidade de melão minimamente processado armazenado em atmosfera modificada passiva. **Horticultura Brasileira**. 21:655-659, 2003.

Balagopalan, C.; Padmaja, G. Storage of tuber crops. **Indian Farming**. 33:51-53, 1994.

Beeching, J. R.; Dodge, A. D.; Moore, K. G.; Phillips, H. M.; Wenham, J. E. Physiological deterioration in cassava: possibilities for control. **Tropical Science**. 34:335-343, 1994.

Bender, J. R. Colheita e armazenagem. In: **Manual da cultura da macieira**. Florianópolis: EMPASC. 562p. p.521-550, 1986.

Bezerra, V. S.; Pereira, R. G. F. A.; Carvalho, V. D.; Vilela, E. R. Raízes de mandioca minimamente processadas: efeito do branqueamento na qualidade e na conservação. **Ciência Agrotécnica**. 26:564-575, 2002.

Bolin, H. R.; Stafford, A. E.; King, A. D. Jr; Huxsoll, C. C. Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. **Journal of Food Science**. 42:1319-1321, 1977.

Booth, R. H. Storage of fresh cassava (*Manihot esculenta*) I. Post harvest deterioration and its control. **Experimental Agriculture**. 12:103-111, 1976.

Bracket, R. E. Microbial consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal Food Processing and Preservation**. Pres. 13:281-292, 1989.

Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. 72:248-254, 1976.

Brecht, J. K. Lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**. 30:18-22, 1995.

Buschmann, H.; Rodriguez, M. X.; Tohme, J. Beenching, J. R. Accumulation of hidroxicoumarins during post-harvest deterioration of tuberous roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Annals of Botany**. 86:1153-1160, 2000.

Campos, A. D.; Carvalho, V. D. Influência do ácido ascórbico e da umidade na deterioração fisiológica das raízes de mandioca em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 27:1147-1152, 1992.

Cantos, E.; Tudela, J. A.; Gil, M. I.; Espín, J. C. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50:3015-3023, 2002.

Cantwell, M. Postharvest handling systems: minimally processed fruits and vegetables. In: Kader, A. A. (Ed.) **Postharvest technology of horticultural crops**. 2. Davis: Univ. California, Division of horticulture and natural resources, 1992. p.227-281

Cantwell, M. Preparation and quality of fresh cut produce. In: **Encontro Nacional de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, 2.**, UFV:Viçosa, MG, 2000.

Carnelossi, M. A. G. **Fisiologia pós-colheita de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) minimamente processada**. 2000. 81p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Carvalho, V. D. de; Chalfoun, S. M.; Huei-Wang, S. Armazenamento pós-colheita de mandioca. II. Efeito das alterações no grau de deterioração fisiológica e na composição físico-química e química de seis cultivares de mandioca. **Revista Brasileira de Mandioca**. 1:25-34, 1982.

Cereda, M. P.; Vilpoux, O. Conservação de raízes. In: **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo. Fundação Cargill. 2003, p. 13-29, 711p.

Cheng, G. W.; Crisosto, C. H. Browning potential, phenolic composition, and polyphenoloxidase activity of buffer extracts of peach and nectarine skin tissue. **Journal of the American Society Horticultural Science**. 120:835-838, 1995.

Cherry, L. P. Improving the safety of fresh produce with antimicrobial. **Food Technology**. 53:54-59. 1999.

Chitarra, M. I. F.; Chitarra, A. B. Processamento mínimo de alface. In: **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE. 531p. 2007.

Chutintrasri, B; Noomhorm, A. Thermal inactivation of polyphenoloxidase in pineapple puree. **Swiss Society of Food Science and Technology**. 39:492-495, 2006.

Coelho, A. F. S. **Qualidade de alface Americana (*Lactuca sativa* L.) minimamente processada**. 2001. 104p. (Dissertação de Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Daniels, J. A.; Krishnamurthi, R.; Rizvi, S. S. H. A review of effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality. **Journal Food Protection**. 48:532-537, 1985.

Data, E.S.; Quevedo, M. A.; Gloria, L. A. Pruning techniques affecting the root quality of cassava at harvest and subsequent storage. In: Uritani, J.; Reyes, E. D. (eds.) **Tropical root crops: Post-harvest physiology and processing**. Toquio: Japan Scientific Press, 1984. p.127-143.

Diniz E.; Figueirêdo, R. M. F.; Queiroz, A. J. M. Atividade de água e condutividade elétrica de polpas de acerolas concentradas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais** 1:9-17, 2003.

Dixon, R. A.; Paiva, N. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **The Plant Cell**. 7:1085-1097, 1995.

Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A.; Smith, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**. 28:350-356, 1956.

Folegatti, M. I. S.; Matsuura, F. C. A. U. Mandioca e derivados. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**. [www.cnpmf.embrapa.br](http://www.cnpmf.embrapa.br). Acesso em: 10/10/2006.

Geraldine, R. M. **Parâmetros tecnológicos para o processamento mínimo de alho (*Allium sativum* L.)**. 2000. 84p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Gómez-López, V. M. Inhibition of surface browning cut avocado. **Journal of Food Quality**. 25:369-379, 2002.

Grossi, J. L. S.; Neto, J. J.; Lopes, C. A.; Coneglian, R. C. C.; Sabaasrur, A. U. O. Alterações na composição química no período pós-colheita de raízes de mandioca cv. Saracura. **Agronomia**. 38:59-63, 2004.

Guimarães, H. M. A. Deterioração pós-colheita da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.) mansa da cultivar cacau. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** 2002.

Hoffman, N. E.; Yang, S. F. Changes of 1-aminocyclopropano-1-carboxylic acid content in ripening fruits in relation to their ethylene production rates. **Journal of American Society Hort. Sci.** 105:492-495, 1980.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Resultados da Amostra do Censo Demográfico. 2000. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidades/> Acesso em 12/09/2007.

Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo, 1985. v.1, 533p.

Isherwood, F. A. Strach-sugar interconversion in *Solanum tuberosum*. **Phytochemistry**. 12:2579-2591, 1973.

Iyengar, R.; McEvel, A. J. Anti-browning agents alternatives to the use of sulfites in foods. **Trends Food Science Technology**. 3:60-64, 1992.

Kader, A. A. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmosphere on fruits and vegetables. **Food Technology**. 40:99-104, 1986.

Kader, A. A.; Watkins, C. B. Modified atmosphere packaging-Toward 2000 and beyond. **HortTechnology**. 10:483-486, 2000.

Kader, A. A.; Zagory, D.; Kerbel, E. I. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. **Food Science and Nutrition**. 28:1-30, 1989.

Kato, M. S. A.; Carvalho, V. D.; Corrêa, H. Efeitos da poda na deterioração fisiológica, atividade enzimatic e nos teores de compostos fenólicos em raízes de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 26:237-245, 1991.

Kays, E. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: Van Nostrand Reinhold. 1991. p. 532p.

Ke, D.; Saltveit, M. E. Jr. Effects of Calcium and Auxin on Russet Spotting and Phenylalanine Ammonia lyase Activity in Iceberg Lettuce. **HortScience**. 21:1169-1171, 1986.

Ke, D.; Saltveit, M. E. Jr. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. **Physiology Plantarum**. 76:412-418, 1989

Kim, D.M.; Smith, N.L.; Lee, Y.C. Quality of minimally processed apple slices from selected cultivars. **Journal of Food Science**. 58:1115-1117, 1993.

Kleiber, A.; Kim, S. B. Minimal processing of chinese cabbage. **Acta Horticulturae**. 464: 249-251. 1998.

Lamikanra, O.; Watson, M. A. Effects of ascorbic acid on peroxidase and polyphenoloxidase activities in fresh-cut cantaloupe melon. **Journal of Food Science**. 66:1283-1286, 2001.

Lange, D. L. New film technologies for horticultural commodities. **HortTechnology**. 10:487-490, 2000.

Limbo, S.; Piergiovanni, L. Shelf life of minimally processed potatoes. Part 1: Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic browning. **Postharvest Biology and Technology**. 39:254-264, 2006.

Lund, D. G.; Petrini, L. A.; Aleixo, J. A. G.; Rombaldi, C. V. Uso de sanitizantes na redução da carga microbiana de mandioca minimamente processada. **Ciência Rural**. 35:1431-1435, 2005.

Macedo, J. A. B.; Andrade, N. J.; Chaves, J. P. B.; Araújo, J. M. A.; Coelho Silva, M. T.; Jordão, C. P. Formação de trihalometanos em soluções sanitizantes utilizadas no processo de desinfecção de indústrias de alimentação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. 54:216-230, 1999.

Maini, S. B.; Balagopal, C. Biochemical changes during post-harvest deterioration of cassava. **Journal of Root Crops**. 4:31-33, 1978.

Martinez, M. V.; Whitaker, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science Technology**. 6:195-200, 1995.

McCready, R. M.; Guggolz, A.; Silveira, V.; Owens, H. S. Determination of starch and amylase in vegetables; application to peas. **Analytical Chemistry**. 22:1156-1158, 1950.

Medeiros, E. A. A. M.; Moraes, F. F. F.; Souza, F.; Chaves, D. V.; Junquiera, M. S.; Moreira, S. I.; Costa, F. B.; Nascimento, A. S.; Zerdas, E. R. M. A.; Puschmann, R. Rendimento de hortaliças minimamente processadas: simulação de uma agroindústria familiar. In: **Encontro Nacional de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, 4.**, USP: São Pedro, SP, 2006.

Moraes, I. V. M. **Morango minimamente processado e conservado sob refrigeração e atmosfera controlada**. 2005. 116p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Moretti, C. L. Panorama do processamento mínimo de frutas e hortaliças. In: **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE. 531p. 2007.

Moretti, C. L.; Berg, F. L. N.; Mattos, L. M. Fluxograma de processamento mínimo de mini ceouras. **IV Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, I Simpósio Ibero-americano de Vegetais Frescos e Cortados**. USP/ESALQ; São Pedro, SP, p. 216. 2006.

Motta, E. Sistema brasileiro de resposta técnicas (SBRT). Disponível em: <http://www.sbrt.ibict.br>, acessado em 05/02/2009.

Mujica, P. Y. C. Avaliação dos métodos de inativação enzimática em mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) minimamente processada. In: **Simpósio Brasileiro de Pós-colheita, 2.**, UFV:Viçosa, MG, 2007.

Nelson, N. A. A photometric adaptation of Somogy method for determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**. 153:375-390, 1944.

Nguyen, T. B. T.; Ketsa, S.; van Doorn, W. G. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**. 30:187-193, 2003.

Nguyen-The, C.; Carlin, F. Microbiology of minimally processed fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 34:371-401, 1994.

Nourian, F.; Ramaswamy, H. S.; Kushalappa, A. C. kinetics of quality change associated with potatoes stored at different temperatures. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**. 36:49-65, 2003.

Oliveira, L. M.; Alves, R. M. V.; Sarantópoulos, C. I. G. L.; Padula, M.; Garcia, E. E. C.; Coltro, L. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Centro de Tecnologia de Embalagens. CETEA: ITAL. Campinas. 1996. 219p.

Oliveira, M. A.; Pantaroto, S.; Cereda, M. P. Efeito da sanitização e de agente antioxidante em raízes de mandioca minimamente processadas. **Brazilian Journal of Food Technology**. 6:339-344, 2003.

Padmaja, G.; Balagopa, L. C.; Potty, V. P. polifenoles y el deterioro fisiológico en yucca. **Yuca Boletín Informativo**. Cali. 10:5-8, 1982.

Palou, E.; López-Malo, A.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Welti-Chanes, J.; Swanson, B.G. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. **Journal of Food Science**, 64:42-45, 1999.

Pineli, L. L. O.; Moretti, C. L. Processamento mínimo de cenoura. In: Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE. 531p. 2007.

Pineli, L. L. O.; Moretti, C. L.; Almeida, G. C.; Nascimento, A. B. G.; Onuki, A. C. A. Associação de atmosfera modificada e antioxidantes reduz o escurecimento de batatas 'Ágata' minimamente processadas. **Horticultura Brasileira**. 23:993-999, 2005a.

Pineli, L. L. O.; Moretti, C. L.; Almeida, G. C.; Nascimento, A. B. G.; Onuki, A. C. A. Caracterização química e física de batatas 'Ágata' minimamente processadas, embaladas sob diferentes atmosferas modificadas ativas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 40:1035-1041, 2005b.

Plumbley, R. A.; Rickard, J. E. Post-harvest deterioration of cassava. **Tropical Science**. 31:295-303, 1991.

Porte, A.; Maia, L. H. Alterações fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de alimentos minimamente processados. **B. CEPPA**: Curitiba. 19:105-118. 2001.

Price, M. L.; Butler, L. G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 25:1268-1273, 1977.

Puschmann, R.; Costa, F. B.; Simões, A. N.; Silva, E. O., História e atualidades sobre pesquisa com processamento mínimo de frutas e hortaliças no Brasil. **IV Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutos e Hortaliças, I Simpósio Ibero-americano de Vegetais Frescos e Cortados**. USP/ESALQ; São Pedro, SP, 2006.

Rickard, J. E. Biochemical changes involved in the post-harvest deterioration of cassava roots. **Tropical Science**. 23:235-237, 1981.

Rickard, J. E. Physiological deterioration of cassava roots. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 36:167-176, 1985.

Rickard, J. E.; Gahan, P. B. The development of occlusions in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) root xylem vessels. **Annals of Botany**. 52:811-812, 1983.

Rolle, R.; Chism, G. W. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**. 10:157-165, 1987.

Roura, S. I.; Pereyra, L.; Del Valle, C. E. Phenylalanine ammonia lyase activity in fresh cut lettuce subjected to the combined action of heat mild shocks and chemical additives. **Food Science and Technology**. 41:919-924, 2008.

Ruiz-Cruz, S.; Acedo-Félix, E.; Díaz-Cinco, M.; Islas-Osuna, M. A.; González-Aguilar, G. A. Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. **Food Control**. 18:1383-1390, 2007.

Saltveit, M. E. Is it possible to find an optimal controlled atmosphere? **Postharvest Biology and Technology**. 27:3-13, 2003.

Saltveit, M. E. Physical and Physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. In: Tomás-barberán, F. A.; Robins, R. J. (ed.). **Phytochemistry of fruits and vegetables**. London: Oxford University Press. 1997. p. 205-220.

Sarantópoulos, C. I. G.; Oliveira, L. M.; Canavesi, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. CETEA: ITAL. Campinas. 2001. 213p.

Serquimico. Disponível em: <http://www.serquimico.com.br>, acessado em 05/02/2009.

Setor1, Disponível em: <http://www.setor1.com.br/analises>, acessado em 10/03/2007.

Silva, E. O. **Fisiologia pós-colheita de repolho (*Brassica oleracea* var. capitata) minimamente processado**. 2000. 90p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Silva, E. O.; Puschmann, R.; Soares, N. F. F.; Carnelossi, M. A. G.; Moretti, C. L.; Cenci, S. A. Processamento mínimo de hortaliças no Brasil. **Simposium “Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados en Iberoamérica”**. San José-Costa Rica, 2004.

Silva, V. A. **Fisiologia de cenoura minimamente processada**. 2003. 78p. Tese (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Silva, V. V.; Soares, N. F. F.; Geraldine, R. M. Efeito da embalagem e temperatura de estocagem na conservação de mandioca minimamente processada. **Brazilian Journal of Food Technology**. 6:197-202, 2003.

Simões, A. N. **Caracterização anatômico-fisiológica e conservação de cenoura minimamente processada**. 2008. 95p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Soares, N. F. F., comunicação pessoal, 24/07/2007.

Soares, N. F. F.; Geraldine, R. M. Embalagens. In: **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE. 531p. 2007.

Souza, J. B.; Daniel, L. A. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. Coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. 10:111-117, 2005.

Souza, L. F.; Fialho, J. F. Cultivo da mandioca para região de cerrado. Sistema de produção, 8. **Versão eletrônica**. 2003.

Stencl, J.; Otten, L.; Gotthardova, J.; Hamola, P. Model comparisons of equilibrium moisture content of prunes in the temperature range of 15 45°C. **Journal of Stored Products Research**. 35:27-36, 1999.

Suma, Disponível em: <http://www.copapel.com.br>, acessado em 10/02/2009.

Tanaka, Y.; Data, E. S.; Hirose, E. S.; Tanaguchi, T.; Uritani, I. Biochemical changes in secondary metabolites in wounded and deteriorated cassava roots. **Agricultural and Biological Chemistry**. 47:693-700, 1983.

Uritani, I. Biochemistry on postharvest metabolis and deterioration of some tropical tuberous crops. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**. 40:177-183, 1999.

Vanetti, M. C. D. Controle microbiológico e higiene no processamento mínimo. In: **Encontro Nacional de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, 2.**,UFV: Viçosa, MG, 2000.

Vanetti, M. C. D. Disponível em: [hptt//www.cnph.embrapa.br](http://www.cnph.embrapa.br), acessado em 05/02/2008.

Vanetti, M. C. D. Microbiologia. In: Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE. 531p. 2007.

Viña, S. Z.; Chaves, A. R. Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage. **Food Chemistry**. 94:68-74, 2006.

Vitali, A. A. Importância da atividade de água em alimentos. In: Jardim, D.C.P. (Org.) Seminário sobre a atividade de água em alimentos, 1, 1987, Campinas. **Resumos...** Campinas: ITAL, 1987. p.1-5.

Wang, S.; Carvalho, V. D.; Chalfoun, S. M. Armazenamento pós-colheita de mandioca: V. Influência de polifenoxidase na deterioração fisiológica . **Revista Brasileira de Mandioca**. 2:17-20. 1983.

Watada, A.E.; Abe, K.; Yamuchi, N., Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Technology**. 1:116-122, 1990.

Watada, A.E.; Ko, N.P.; Minott, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology and Technology**. 9:115–125, 1996.

Watada, A.E.; Qi, L.; Quality of fresh-cut produce. **Postharvest Biology and Technology**. 15:201–205, 1999.

Yang, S. F. Biosynthesis and action of ethylene. **HortScience**. 20:41-45, 1985.