

Área: Ciência de Alimentos

ESTABILIZAÇÃO ENZIMÁTICA DE SUCO DE MAÇÃ POR TRATAMENTO QUÍMICO, TRATAMENTO TÉRMICO E CLARIFICAÇÃO

**Juliana Rizzardi, Aline Moreira, Cássia Borges de Camargo, Larissa Pagliarini, Vandrê
Barbosa Brião, Luciane Maria Colla ***

Laboratório de Fermentações, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo

**E-mail: lmcolla@upf.br*

RESUMO

As enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) são as principais responsáveis pelo escurecimento enzimático de frutas e hortaliças, alterando as propriedades de cor, sabor, odor e textura. O tratamento químico com uso de substâncias antioxidantes é capaz de prevenir a formação de produtos de oxidação, logo, diminui o escurecimento enzimático. O tratamento térmico inativa as enzimas, evitando o escurecimento enzimático, mas a peroxidase somente é inativada em temperaturas muito elevadas, e estas por sua vez causam alterações sensoriais no produto. Dessa forma, métodos não térmicos são alternativas para evitar o escurecimento, como o processo de clarificação, a qual envolve a utilização de coadjuvantes que tem por objetivo melhorar o processo de filtração e clarificação. Objetivou-se realizar a inativação enzimática do suco de maçã utilizando tratamento químico, tratamento térmico e clarificação. Os sucos foram tratados quimicamente com a combinação de ácido ascórbico e metabissulfito de sódio em diversas concentrações. A ação das enzimas peroxidase e polifenoloxidase foram inibidas quando o suco foi tratado quimicamente com 0,05 % de ácido ascórbico e 0,01 % de metabissulfito de sódio e a inativação destas ocorreu após ao tratamento térmico e clarificação. A análise sensorial dos sucos não tratado e tratado com metabissulfito de sódio (0,01 %) e ácido ascórbico (0,05%), após tratamento térmico e clarificação, demonstrou não haver diferenças significativas entre as amostras.

Palavras-chave: Peroxidase, polifenoloxidase, tratamento químico, tratamento térmico, clarificação.

1 INTRODUÇÃO

A maçã é uma fruta bem aceita pela população, porém, bastante susceptível à deterioração causada pelo escurecimento enzimático, tornando-se inadequada para o consumo

devido à formação de coloração escura (ROCHA; MORAIS, 2001; GOUPY et al., 1995, apud OLIVEIRA et al., 2008).

As enzimas são responsáveis pela maioria das reações associadas à reprodução, ao crescimento e amadurecimento de todos os organismos. Na maioria dos casos estas são atividades desejadas. Em alguns casos, demasiada atividade enzimática, como no escurecimento causado pela polifenoloxidase, pode conduzir a perdas importantes em frutas e hortaliças (FENNEMA, 2000).

A mudança indesejável na cor, aroma e textura dos frutos e produtos hortícolas é associado com as enzimas polifenoloxidase (EC 1.10.3.1; PPO) e peroxidase (EC 1.11.1.7; POD) do grupo das oxirredutases, responsáveis por catalisar grande número de reação de oxidação em plantas (REED, 1975; McLELLAN; ROBINSON, 1984, apud TROIANI; TROPIANI; CLEMENTE, 2003).

A peroxidase (EC 1.11.1.7; POD) é capaz de catalisar um grande número de reações oxidativas em plantas usando peróxido como substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um acceptor de hidrogênio. A atividade da peroxidase está associada ao aparecimento de sabores estranhos em alimentos termicamente processados de maneira inadequada, sem que ocorra a inativação da enzima. (CLEMENTE; PASTORE, 1998, apud FREITAS et al., 2008; ARAÚJO, 2001).

A atividade de polifenoloxidases (EC 1.10.3.1; PPO) é geralmente alta em tecidos infectados e está envolvida com a senescência. A ação da polifenoloxidase processa-se através da hidroxilação de monofenóis para o-difenóis e oxidação destes o-difenóis para quinonas, havendo estímulo a biossíntese de oxidação destes fenóis e, conseqüentemente, um aumento da atividade desta enzima. (PADMAJA et al., 1982, apud CAMPOS; SILVEIRA, 2003)

O controle da atividade da peroxidase e polifenoloxidase é de grande importância para a tecnologia de alimentos, uma vez que estas são responsáveis pelo escurecimento em frutas e vegetais e seus produtos processados (CLEMENTE; PASTORE, 1998; PRABHA; PATWARDHAN, 1986; VAMOS, 1981, apud VALDERRAMA et al., 2001). O controle do escurecimento enzimático pode ser feito através de métodos químicos e/ou físicos.

Os métodos químicos estão baseados em um sistema oxidante que necessita da presença de três compostos: enzima, oxigênio e substrato. Para evitar a oxidação é necessário inativar a enzima ou eliminar o oxigênio. Entretanto, a inativação das enzimas é algumas

vezes prejudicial e a eliminação do oxigênio é difícil. Neste caso, o único recurso possível é o uso de substâncias antioxidantes (BRAVERMAN, 1998 apud FAGUNDES et al., 2005).

Os métodos físicos incluem redução de temperatura ou inativação térmica da enzima, proteção do produto contra oxigênio, desidratação, uso de atmosfera modificada, embalagens ativas e outros. (MARTINEZ; WHITAKER, 1995, apud OLIVEIRA et al., 2008). O processamento térmico visa aumentar sua vida útil e garantir a saúde do consumidor, porém deve ser conduzido de forma a manter as características sensoriais mais próximas do suco natural *fresco*, seguindo uma grande tendência de preferência do consumidor (NETO, 1999 apud DELLA TORRE, 2003).

Dependendo do tipo de produto final desejado, o suco requer uma etapa de clarificação. A clarificação convencional envolve a utilização de coadjuvantes como albumina, gelatina, caseína, quitosana, ou bentonita, que tem por objetivo melhorar o processo de filtração e clarificação (VARNAM e SUTHERLAND apud SANTIN 2004).

Objetivou-se realizar a inativação enzimática do suco de maçã através de tratamento químico e térmico seguido de clarificação com terra diatomácea e gelatina.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 Obtenção do suco de maçã

A produção do suco foi realizada com maçãs de cultivar Fuji, as quais foram selecionadas manualmente, limpas e lavadas e o suco extraído em centrífuga doméstica (Black&Decker).

2.1.2 Tratamento químico

O suco obtido após a centrifugação foi tratado quimicamente com as combinações de ácido ascórbico e metabissulfito de sódio (0,5 % e 0,1 %; 0,25 % e 0,1 %; 0,1 % e 0,1 %; 0,5 % e 0,05 %; 0,5 % e 0,01 %; 0,25 % e 0,01 %; 0,05% e 0,01 %). Após 10 min de tratamento,

foi realizada a avaliação subjetiva da cor e sabor dos sucos. A avaliação foi realizada pelos membros da equipe objetivando-se definir qual das combinações inibiram visualmente o escurecimento enzimático sem deixar sabor residual e descaracterizar o sabor natural da fruta.

2.1.3 Tratamento térmico e clarificação

Após definir quais eram as melhores concentrações de ácido ascórbico e metabissulfito de sódio, o suco foi filtrado a vácuo, tratado térmicamente a 83°C por 3 min, e após foi feita a clarificação com 40 mg/L de terra diatomácea e 300 mg/L de gelatina. O suco foi resfriado por 2 h a 4°C, filtrado a vácuo e armazenado em refrigerador a 5°C.

Um suco controle, não tratado químicamente, foi produzido. O tratamento térmico e a clarificação foram realizados da mesma forma que no suco tratado.

2.1.4 Atividade enzimática

As análises da atividade enzimática da peroxidase e polifenoloxidase foram realizadas no suco após o tratamento químico, após tratamento térmico e após clarificação.

A atividade da polifenoloxidase foi determinada utilizando o método descrito por Valderrama et al., (2001 apud FUJITA, 1995) com algumas modificações. A medida da atividade enzimática foi realizada tomando-se em tubos de ensaio 2 mL de solução de catecol 1%, 5 mL de solução tampão fosfato pH 6,0 e 0,1 mL da solução enzimática (suco). As reações foram realizadas a 37°C, durante 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min, sendo interrompidas pela adição de 1 mL de HCl 1 N. O escurecimento enzimático foi avaliado pela leitura da absorbância das amostras em espectrofotômetro a 425 nm. Uma unidade de atividade de PPO foi definida como o aumento de uma unidade de absorbância por grama de proteína da amostra.

A atividade de peroxidase foi determinada utilizando o método descrito por Valderrama et al., (2001 apud CLEMENTE, 1998) com algumas modificações. A medida da atividade enzimática foi realizada tomando-se em tubos de ensaio, 2 mL de solução de guaiacol 0,5%, 1 mL de H₂O₂ 0,08%, 10 mL de solução tampão fosfato pH 6,0 e 0,5 mL da solução enzimática (suco). As reações foram realizadas a 37°C, durante 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min, sendo interrompidas pela adição de 1 mL de HCl 1 N. O escurecimento enzimático

foi avaliado pela leitura da absorvância das amostras em espectrofotômetro a 470 nm. Uma unidade de atividade de POD foi definida como o aumento de uma unidade de absorvância por grama de proteína da amostra.

O cálculo das atividades enzimáticas foi feito para ambas as enzimas, polifenoloxidase e peroxidase, conforme a Equação 1 ($AE = (ABS - ABSb) / ([proteína] * vol. extrato)$), onde AE é a atividade enzimática (U), ABS é a absorvância, ABSb é a absorvância do branco, [proteína] é a concentração de proteína (mg) e vol. extrato é o volume de extrato.

A partir das atividades enzimáticas obtidas foi calculado o potencial de inibição dos tratamentos conforme a Equação 2 ($Pi\% = (AE_{controle} - AE_{tratamento}) / AE_{controle} * 100$), onde Pi é o potencial de inibição, AE controle é a atividade enzimática do controle e AE tratamento é atividade enzimática do tratamento.

2.1.5 Avaliação Sensorial

Os sucos não tratado quimicamente (controle) e tratado com metabisulfito de sódio (0,01 %) e ácido ascórbico (0,05 %) foram tratados térmicamente e clarificados e posteriormente submetidos a avaliação sensorial através dos testes de aceitabilidade e preferência pareada. No teste de aceitabilidade solicitou-se aos julgadores para avaliarem os seus sentimentos em relação a cada amostra utilizando uma escala hedônica de 9 pontos, variando de “gostei extremamente” a “desgostei extremamente”. Os atributos avaliados foram o aroma, o sabor, a turbidez e a impressão global. Os resultados foram avaliados através de Análise de Variância (Anova) com nível de significância de 5 % para determinar a diferença entre as amostras. A comparação entre as médias obtidas das amostras foi feita utilizando o teste de Tukey de diferenças entre médias, baseado na Tabela 12 do Manual de Análise Sensorial- Testes Discriminativos e Afetivos (Ferreira, 2000).

No teste de preferência pareada solicitou-se aos julgadores para indicarem a amostra de sua preferência quanto aos atributos cor, sabor, aroma, turbidez e impressão global. Esta avaliação testa a escolha de uma amostra sobre a outra. A análise dos resultados foi feita com base na Tabela 4 (Testes de comparação pareada-diferença, bicaudal) do Manual de Análise Sensorial- Testes Discriminativos e Afetivos (Ferreira, 2000).

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.2.1 Avaliação Sensorial Preliminar

A partir da avaliação sensorial preliminar dos sucos sem tratamento e dos sucos tratados com as combinações de ácido ascórbico e metabissulfito de sódio de 0,5 % e 0,1 %; 0,25 % e 0,1 %; 0,1 % e 0,1 %; 0,5 % e 0,05 %; 0,5 % e 0,01 %; 0,25 % e 0,01 %; 0,05 % e 0,01 %, verificou-se que todas as combinações testadas de ácido ascórbico e metabissulfito de sódio ocasionaram inibição visual do escurecimento enzimático durante todo o tratamento, demonstrando que as combinações testadas foram eficientes para minimizar a oxidação enzimática, impedindo a formação de pigmentos escuros causados pela ação das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. As menores concentrações utilizadas de ácido ascórbico e metabissulfito de sódio (0,05 % e 0,01 %, respectivamente), permitiram a obtenção de um suco de melhor sabor, comparada as outras concentrações testadas, sem descaracterizar o sabor da fruta. Dessa forma, os ensaios de atividade enzimática foram realizados no suco tratado com 0,05 % de ácido ascórbico e 0,01 % de metabissulfito de sódio.

2.2.2 Potencial de inibição de atividade enzimática

A Tabela 1 apresenta o potencial de inibição das atividades das enzimas peroxidase e polifenoloxidase do suco de maçã no tempo de 30 min de reação, após o tratamento químico com ácido ascórbico 0,05 % e metabissulfito de sódio 0,01 %, após o tratamento térmico e após a clarificação. Após o tratamento químico do suco com ácido ascórbico 0,05 % e metabissulfito de sódio 0,01 % foi observada uma inibição de 72,25 % para a enzima peroxidase no tempo inicial de reação, sendo que a maior inibição desta enzima ocorreu no tempo de 30 min de reação, com uma redução de 83,33 % da atividade. Após o tratamento térmico, o maior potencial de inibição da peroxidase foi verificado no tempo de 30 min de reação, indicando uma inibição de 97,4 %, ou seja, quase uma inativação completa desta enzima, e após a clarificação do suco, o potencial de inibição da peroxidase foi de 100 % desde o tempo zero de reação, logo, a ação da peroxidase foi totalmente inativada. A enzima polifenoloxidase foi totalmente inibida desde o tratamento químico.

Resultados semelhantes para o tratamento térmico foram encontrados por Nogueira e Silva (1989), que trataram termicamente a maçã a 80°C por 2 min obtendo a inativação total (100 %) das enzimas polifenoloxidase e peroxidase. Quando a maçã foi tratada com metabissulfito de potássio (0,05 %, 0,1 % e 0,2 %) ocorreu a inativação da enzima polifenoloxidase e a enzima peroxidase apresentou-se a redução de sua atividade de 80 %, similarmente ao que ocorreu neste trabalho com relação ao efeito do tratamento químico sobre a ação da polifenoloxidase. Quando a maçã foi tratada com ácido ascórbico (0,5 % e 1,0 %) ocorreu a inativação total das enzimas polifenoloxidase e peroxidase (NOGUEIRA; SILVA, 1989).

Tabela I Potencial de inibição das enzimas peroxidase e polifenoloxidase no tempo de 30 min, após o tratamento químico, tratamento térmico e clarificação (suco final)

Tempo (min)	Potencial de inibição do suco com tratamento químico (%)		Potencial de inibição do suco com tratamento térmico (%)		Potencial de inibição do suco final (%)	
	POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO
0	72,25	100	95,08	100	100	100
5	78,15	100	91,69	100	100	100
10	79,46	100	94,05	100	100	100
15	77,00	100	92,68	100	100	100
20	80,90	100	94,43	100	100	100
25	78,78	100	96,59	100	100	100
30	83,33	100	97,40	100	100	100

Valderrama et al. (2001), estudaram o tratamento térmico de casca de maçã a temperatura de 75°C por 10 min e obtiveram 85 % de potencial de inibição da enzima peroxidase. Para a enzima polifenoloxidase ocorreu o decréscimo contínuo da atividade da enzima até inativação total.

Nogueira e Silva (1989) estudaram a inativação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase da maçã utilizando ácido ascórbico nas concentrações 0,1 %, 0,5 % e 1%; metabissulfito de potássio nas concentrações 0,05 %, 0,1 % e 0,2 % e tratamento térmico nas temperaturas de 70° C, 80° C e 90° C por 2 min. A enzima peroxidase apresentou uma atividade muito baixa, e o tratamento que se mostrou mais eficiente para sua inativação foi o tratamento térmico. Com o ácido ascórbico, também se conseguiu a inativação total, enquanto

o metabissulfito se mostrou menos eficiente, em todas as concentrações utilizadas. Para a inativação da polifenoloxidase, o método mais eficiente foi o metabissulfito, pois na menor concentração usada, já houve a total inativação da enzima. O tratamento térmico também se mostrou eficiente bem como o emprego do ácido ascórbico, mas menos eficiente que o metabissulfito. Assim levando-se em consideração a inibição das duas enzimas, no estudo de Nogueira e Silva (1989), o tratamento térmico parece ser o mais indicado no caso da maçã.

Em comparação com o estudo citado anteriormente, o tratamento químico realizado neste trabalho, combinando dois agentes antioxidantes (metabissulfito de sódio e ácido ascórbico) apresentou melhores resultados, uma vez que as concentrações usadas foram inferiores e ocasionaram elevados potenciais de inibição.

2.2.3 Análises Sensoriais

A Tabela 2 apresenta o resultado do teste de aceitabilidade dos sucos sem tratamento (A) e tratado com agentes químicos (ácido ascórbico 0,05 % e metabissulfito de sódio 0,01 %), tratamento térmico e clarificação (B), em relação aos atributos de aroma, sabor, turbidez e impressão global. Os atributos aroma, sabor, turbidez e impressão global, apresentaram mais notas entre 7 e 8, as quais se apresentam na escala hedônica entre gostei moderadamente e gostei muito.

Tabela 2 Resultados do teste de aceitabilidade

Amostra	Aroma		Sabor		Turbidez		Impressão global	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Média	7	6,3	7,5	6,9	6,8	7	7,4	7,1
Desvio	1,2	1,8	1	1,6	1,1	1,5	0,9	1,3
CV	16,8	28,8	13,4	22,6	16,3	21,2	12,6	18,6

A Tabela 3 apresenta a análise de variância das respostas dos julgadores no teste de aceitabilidade dos sucos sem tratamento (A) e com tratamento (B) com relação aos atributos de aroma, sabor, turbidez e impressão global. Verifica-se que as amostras de suco diferiram quanto à aceitabilidade a um nível de significância de 10 % somente quanto aos atributos de aroma e sabor. Se levado em consideração um intervalo de confiança de 95 % não houve diferença significativa entre as amostras de suco tratado e não tratado quanto a aceitabilidade

dos julgadores. Apesar do suco tratado apresentar melhor aspecto que o suco não tratado devido à inibição do escurecimento enzimático, em virtude de no teste de aceitabilidade as amostras serem apresentadas de forma monádica aos julgadores, estes não indicaram rejeição maior ao suco não tratado.

Tabela 3 Valores do nível de significância entre os atributos

	Nível de significância
Aroma	0,098
Sabor	0,082
Turbidez	0,625
Impressão global	0,261

A Tabela 4 apresenta os resultados do teste de preferência pareada entre as amostras A (suco sem tratamento) e B (suco tratado), em relação aos atributos de aroma, sabor, turbidez e impressão global. Foram testados 24 pares de amostras e, para que haja diferença significativa entre as amostras a 5 % de significância, o número mínimo de respostas a favor de uma das amostras deve ser 18 (FERREIRA, 2000), logo as duas amostras apresentaram-se iguais quanto a esses atributos.

Tabela 4 Resultados do teste de preferência pareada entre as amostras A e B

Atributos	Cor		Sabor		Aroma		Turbidez		Impressão global	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Amostra	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Avaliações	9	15	11	13	16	8	10	14	10	14

O tratamento químico ocasionou a inativação enzimática e portanto, a estabilização da cor no suco tratado. Já no suco sem tratamento, os defeitos de turbidez e cor observados foram minimizados através da realização do tratamento térmico da clarificação. O tratamento térmico pode ter ocasionado a precipitação protéica e de componentes de cor, os quais foram removidos através da clarificação, minimizando os efeitos do escurecimento enzimático. Com esse resultado, a etapa do tratamento químico não fez diferença quanto à avaliação do atributo cor, assim, um suco produzido somente com o tratamento térmico e clarificação é suficiente para obter um suco com características sensoriais aceitáveis.

Além disso, apesar dos testes sensoriais não terem apresentado diferenças significativas, alguns julgadores realizaram observações nas fichas sensoriais, sobre o sabor não natural ou modificado perceptível no suco tratado quimicamente. Ainda, segundo os julgadores, o suco tratado quimicamente apresentou-se menos doce comparado com o suco sem tratamento. Estas características sensoriais indesejáveis podem ser atribuídas ao metabissulfito de sódio, que, apesar de serem os mais baratos agentes antiescurecimento, estão sujeitos a restrições devido aos efeitos adversos que podem causar ao produto, como perda de textura, desenvolvimento de sabor desagradável e perda de vitamina B1 (ROUX et al., 2003; BILLAUD et al., 2003, apud OLIVEIRA et al., 2008). O ácido ascórbico não tem sido responsabilizado por alterações de sabor ou textura, sendo também atóxico (PARRY, 1995 apud FAGUNDES et al., 2005).

Assim, a estabilização da cor através do tratamento químico com ácido ascórbico e metabissulfito de sódio, pode não ser uma alternativa viável comercialmente. Uma alternativa seria a estabilização da cor utilizando processos de separação por membranas, como microfiltração, ultrafiltração e osmose inversa. Especificamente na clarificação de sucos, tais processos apresentam diversas vantagens, entre as quais se pode destacar: a baixa demanda energética, ou seja, não requer utilização de calor, desta forma, separações envolvendo proteínas ou outros compostos termolábeis, como vitaminas, são favorecidas uma vez que são preservados nutrientes e constituintes de aroma e sabor, estes, fatores importantes para a qualidade do produto final; a eliminação do uso de terra diatomácea, reduzindo tanto o custo para a aquisição do auxiliar de filtração quanto o custo para o seu descarte; o aumento da qualidade do produto pela redução da sua turbidez; o aumento do rendimento do processo; a redução de custos e do tempo de trabalho e a possibilidade de recuperação da enzima (SANTIN, 2004; GOMES, 2006).

3 CONCLUSÃO

A combinação do ácido ascórbico e metabissulfito de sódio foi eficiente para a estabilização enzimática do suco de maçã, uma vez que estes sais inibiram a ação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase. A realização do tratamento térmico e clarificação com gelatina e terra diatomácea ocasionou a inativação total dessas enzimas.

A análise sensorial dos sucos não tratado e tratado com metabissulfito de sódio (0,01 %) e ácido ascórbico (0,05%), após tratamento térmico e clarificação, demonstrou não haver diferenças significativas entre as amostras.

O tratamento térmico e a clarificação foram eficazes para a estabilização da cor e turbidez dos sucos, uma vez que ambos sucos (tratado e não tratado quimicamente) apresentaram-se claros e límpidos.

REFERÊNCIAS

COMPOS, SILVEIRA, Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Comunicado técnico. ISSN 1806-9185. Pelotas, RS. Abril, 2003.

DELLA TORRE, J.C.M, RODAS.M.A.B, BADOLATO.G.G, TADINI.C.C..Perfil sensorial e Aceitação de Suco de Laranja Pasteurizado Minimamente Processado. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, SP Agosto, 2003.

FAGUNDES,A.F.,AYUB,R.A. Característica físico-química de caquis cv. Fuyu submetido a aplicação de agentes inibidores de escurecimento e armazenados a 0°C. Acta Sci. Agron. Maringá, v. 27, n. 3, p. 403-408, July/Sept., 2005.

FERREIRA, P.L.V.Análise Sensorial: Testes discriminativo e Afetivo.SBCTA. Campinas, 2000.

FREITAS, A.A., FRANCELIN, M.F.,HIRATA, G.F. CLEMENTE, SCHMIDT, F.L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 28(1): 172-177, jan.-mar. 2008.

GOMES, M. DA S. Estudo da pasteurização de suco de laranja utilizando ultrafiltração. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

NOGUEIRA, J.N.; SILVA, E. Efeito comparativo de calor, SO₂ e ácido ascórbico na atividade da polifenoloxidase e peroxidase de algumas frutas e hortaliças. Departamento de Alimentos e Nutrição, FCF/UNESP, Araraquara, SP. 1989

OLIVEIRA, T.M., SOARES, N.F.F., PAULA, C.D., VIANA, G. A. Uso de embalagem ativa na inibição do escurecimento enzimático de maçãs. Ciências Agrárias, Londrina, v. 29, n. 1, p. 117-128, jan./mar. 2008

SANTIN, M. M. Aplicação de tratamento enzimático combinado a microfiltração na clarificação de suco de pêssego. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)- Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2004.

TROIANI, E. P., TROPIANI, C.T., CLEMENTE, E. Peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) in grape(Vitis vinifera L.). Ciência agrotecnica, Lavras. V.27, n.3, p.635-642, maio/jun., 2003.

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