

EFEITO DO  $SO_2$  E DO ÁCIDO ASCÓRBICO NA ATIVIDADE DA  
POLIFENOL OXIDASE E PEROXIDASE EM ALGUMAS  
FRUTAS E HORTALIÇAS\*

E. SILVA\*\*  
J.N. NOGUEIRA\*\*\*

*RESUMO*

No presente trabalho foi estudado o efeito do  $SO_2$  e do ácido ascórbico na atividade da polifenol oxidase e peroxidase em algumas frutas e hortaliças, visando determinar as melhores condições para o controle da reação de escurecimento.

Para a peroxidase das frutas e hortaliças, o ácido ascórbico foi considerado o melhor método de inativação. Já para a polifenol oxidase das fru-

---

\* Trabalho realizado com parte dos dados contidos na Dissertação de Mestrado apresentada pelo primeiro autor à ESALQ, em 1982. Entregue para publicação em 23/03/83.

\*\* Faculdade de Farmácia e Química, USP.

\*\*\* Departamento de Tecnologia Rural, ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

tas e hortaliças, o  $\text{SO}_2$  foi mais eficiente, porém mostrou-se inadequado para controlar a atividade da peroxidase em quase todos os produtos estudados. Uma combinação dos compostos utilizados ( $\text{SO}_2$  e ácido ascórbico) parece ser o método mais indicado para o controle simultâneo da atividade das duas enzimas.

## INTRODUÇÃO

A aceitação de um produto pelo consumidor depende principalmente de sua aparência. A aparência relaciona-se sempre a textura e cor, especialmente a cor. Daí a importância da preservação da cor original dos alimentos após o processamento.

Um dos principais fatores que pode afetar a cor de frutas e hortaliças durante o processamento é o chamado escurecimento enzimico. O tecido danificado quando exposto ao ar escurece rapidamente devido à conversão de compostos fenólicos a ortoquinonas que posteriormente polimerizam-se dando origem a compostos de coloração escura denominados melanoidinas (CORSE, 1964).

São muitas as enzimas que podem catalizar a reação do escurecimento enzimico, destacando-se pela sua importância em frutas e hortaliças, as polifenol oxidases (PONTING, 1960 e BOUCHILLOUX, 1962) e as peroxidases (REED & UNDERKOFER, 1966 e WHITAKER, 1976).

Inúmeros métodos têm sido pesquisados visando controlar o escurecimento enzimico em frutas e hortaliças. O emprego de  $\text{SO}_2$  (NOGUEIRA, 1973) e do ácido ascórbico (BAUERNFEIND & PINKERT, 1970) têm sido citados como os mais eficientes.

A maior desvantagem do emprego de  $\text{SO}_2$  é o seu efeito destrutivo sobre a vitamina  $\text{B}_1$  ou tiamina (ROBERTS & McWEENEY, 1972). Apesar disso, esse inibidor tem sido usado no processamento de alimentos, devido principalmente à sua eficiência e baixo custo (IADEROZA et alii, 1980 e PARK et alii, 1980).

MUNETTA (1966) nos fornece evidências que sugerem que o  $\text{SO}_2$  impede o aparecimento do escurecimento enzimático por inibição da hidroxilação oxidativa da L-tirosina para 3,4 dihidroxifenilalanina. Por outro lado, EMBS & MARKAKIS (1965) apresentaram evidências que mostram que a inibição do escurecimento enzimático pelo  $\text{SO}_2$  é devido, em grande parte, à interação deste composto com a o-quinona, impedindo a sua polimerização que levaria à formação das melanoidinas. Existe também uma outra possibilidade, a de que o  $\text{SO}_2$  agiria reduzindo o oxigênio, tornando-o não disponível a reação de oxidação (MATHEW & PARIPIA, 1971).

FRANCIS & AMLA (1961) mostraram que pedaços de batata colocados por 30 segundos numa solução contendo 2500 ppm de  $\text{SO}_2$ , absorvem cerca de 50 ppm, e que este nível é suficiente para inibir o escurecimento. Deve-se ressaltar entretanto, que a concentração mínima de  $\text{SO}_2$  requerida irá variar com a fonte e com a variedade da matéria-prima, de acordo com o nível de atividade enzimática e a natureza dos substratos fenólicos de cada caso (HAISMAN, 1974).

Dentre os ácidos usados no controle do escurecimento enzimático, destaca-se pelas vantagens que apresenta, o ácido ascórbico. Ele não confere **flavor** aos alimentos, pelo contrário, é usado para preservá-lo durante o processamento (GUTTERSON, 1971). Não possui ação corrosiva sobre os metais, e além disso seu valor como vitamina é bem conhecido (ESKIN et alii, 1971).

De acordo com PONTING (1960) e ADAMS & BLUNDSTONE (1971), o ácido ascórbico não inibe diretamente a enzima, mas reduz a ortoquinona. Este processo é acompanhado por uma perda gradual de atividade pela enzima, conhe

cida como reação de inativação. BAUERNFEIND & PINKERT (1970), também afirmam que quando uma quantidade adequada de ácido ascórbico está presente, a ortoquinona é reduzida para as formas ortofenólicas e o escurecimento não se efetua.

As frutas e hortaliças devem ser tratadas com quantidades adequadas de ácido ascórbico, caso contrário a velocidade da reação diminuirá apenas ligeiramente. O controle total da reação só é obtido quando quantidades de ácido ascórbico em excesso foram utilizadas (ESKIN et alii, 1971).

No presente trabalho os autores se propuseram a estudar o efeito do  $SO_2$  e do ácido ascórbico na atividade da polifenol oxidase e peroxidase em algumas frutas e hortaliças, visando determinar as melhores condições para o controle do escurecimento enzimico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Matéria-prima

Neste estudo foram utilizadas as seguintes frutas e hortaliças: pera (*Pyrus betulaeifolia*), var. d'Água; figo (*Ficus carica* L.), var. Roxo de Valinhos; banana (*Musa cavendishi*), var. Nanica; maçã (*Mallus sylvestris* Mill), var. Golden Delicious; pêsego (*Prunus persica* v. *vulgaris*), var. Talismã; cenoura (*Daucus carota*), var. Roxa; couve-flor (*Brassica oleracea* v. *botrytis*), var. Bola de Neve; batata (*Solanum tuberosum* L.), var. Bintje e palmito (*Euterpe edulis* Mart.) (Juçara).

As diversas variedades foram adquiridas na região de Piracicaba e representam, de um modo geral, as respectivas frutas e hortaliças mais comercializadas no Estado

de São Paulo. Para obtenção das frutas e hortaliças, adotou-se como critério, adquirir somente aquelas que se apresentavam em excelentes condições para o consumo **in natura**.

Uma vez obtida, a matéria-prima era imediatamente transportada para as dependências do Departamento de Tecnologia Rural da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, onde foi analisada.

### **Determinação da atividade da polifenol oxidase (PFO)**

A atividade da PFO foi determinada de acordo com a técnica descrita por PONTING & JOSLYN (1948), com algumas alterações.

Amostras de 40 g de fruta ou hortaliça, descascada, e 160 ml de água destilada gelada (0°-4°C), foram trituradas por três minutos em liquidificador. O material assim preparado, foi centrifugado (International K) por 15 minutos a 1500 rpm. O líquido sobrenadante foi passado para um Erlenmeyer de 250 ml com tampa e colocado em banho de gelo picado, para ser utilizado como fonte enzimica (extrato enzimico).

Em outro Erlenmeyer de 250 ml foram adicionados, 3 ml de catecol 0,1M e 96 ml de tampão 0,2M, pH 6 (substrato), que a seguir foi deixado em banho-maria a 30°C até estabilizar a temperatura. A este substrato foi adicionado 1 ml do extrato enzimico, sendo então rapidamente homogeneizado; tomou-se cerca de 10 ml em um tubo do espectrofotômetro, efetuando-se 10 leituras de 1 em 1 minuto, em 425 nm.

O espectrofotômetro usado foi o Coleman Junior II, modelo 6/20, previamente calibrado com água destilada. Como controle para a reação enzimica, foi utilizado um tubo do espectrofotômetro contendo apenas o substrato (catecol e tampão fosfato).

Uma unidade da enzima (PFO) foi definida como a quantidade de extrato enzimico que acusou um aumento na absorbância de 0,001 unidades por minuto.

### Determinação da atividade da peroxidase (PO)

A atividade da peroxidase foi determinada de acordo com a técnica descrita por FERHRMANN & DIAMOND (1967), com algumas alterações.

Amostras de 40 g de fruta ou hortaliça, descascada, e 160 ml de água destilada gelada (0°-4°C), foram trituradas por três minutos em liquidificador. O material assim preparado, foi centrifugado (International K) por 15 minutos a 1500 rpm. O líquido sobrenadante foi passado para um Erlenmeyer de 250 ml com tampa e colocado em banho de gelo picado, para ser utilizado como fonte enzimica (extrato enzimico).

Em outro Erlenmeyer de 50 ml foram adicionados, 20 ml de tampão fosfato 0,2M, pH 6 e 2 ml do extrato enzimico, que a seguir foi deixado em banho-maria a 25°C até estabilizar a temperatura. Após a estabilização, foi adicionado 1 ml de guaiacol 0,5% e em seguida 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,08%, sendo então rapidamente homogeneizado; tomou-se a seguir 10 ml em tubo do espectrofotômetro, efetuando-se 10 leituras de 1 em 1 minuto, em 470 nm.

O espectrofotômetro usado foi o Coleman Junior II, modelo 6/20, previamente calibrado com água destilada. Como controle para a reação enzimica foi utilizado um tubo do espectrofotômetro contendo a mistura reativa menos o peróxido de hidrogênio (tampão fosfato, extrato enzimico e guaiacol).

Também no caso da PO, uma unidade da enzima foi definida como a quantidade de extrato enzimico que acusou um aumento na absorbância de 0,001 unidades por minuto.

### Condições em que foram estudadas as atividades da PFO e PO

As atividades da PFO e PO foram estudadas nas frutas e hortaliças nas seguintes condições:

- a) No extrato enzimico obtido da matéria-prima **in natura**. Neste caso determinou-se a atividade ótima das enzimas, sendo feitas duas repetições para cada fruta ou hortaliça, em estudo. Estes dados foram utilizados como base para o cálculo do efeito (% de inativação) dos tratamentos com  $SO_2$  e ácido ascórbico na inativação das enzimas estudadas.
- b) No extrato enzimico tratado com metabissulfito de potássio. Foi utilizado metabissulfito de potássio a 0,05, 0,1 e 0,2%, porcentagem esta calculada sobre o peso da fruta ou hortaliça utilizada na obtenção do extrato (40 g). O metabissulfito foi adicionado juntamente com a água destilada, à fruta ou hortaliça antes de ser triturada no liquidificador. Para cada concentração em estudo foram feitas duas repetições.
- c) No extrato tratado com ácido ascórbico. Foi utilizado ácido ascórbico a 0,1, 0,5 e 1,0%, porcentagem também calculada sobre o peso da fruta ou hortaliça utilizada na obtenção do extrato (40 g). O ácido ascórbico foi adicionado juntamente com a água destilada à fruta ou hortaliça, antes de ser triturada no liquidificador. Foram feitas duas repetições para cada concentração de ácido ascórbico em estudo.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados aqui apresentados (Tabelas 1 a 8) correspondem, de um modo geral, às médias das diversas determinações.

### Polifenol oxidase (PFO) em frutas

A Tabela 1 mostra o efeito do metabissulfito de potássio na atividade da polifenol oxidase em frutas.

Tabela 1. Efeito da adição de metabissulfito de potássio na atividade da polifenol oxidase em frutas (% de inibição).

Frutas	Metabissulfito de potássio		
	0,05%	0,1%	0,2%
Pera	94,2	100,0	100,0
Figo	100,0	100,0	100,0
Banana	20,0	71,5	91,1
Maçã	100,0	100,0	100,0
Pêssego	100,0	100,0	100,0

A polifenol oxidase da banana foi a que demonstrou maior resistência à inativação por aquele composto químico, não sendo totalmente inativada nem mesmo na maior concentração usada (0,2%), que foi suficiente para a total inativação da enzima nas outras frutas.

A polifenol oxidase da pera demonstrou pouca estabilidade na presença do metabissulfito de potássio, sendo sua atividade reduzida em 94,2% e 100% respectivamente a 0,05 e 0,1%. Já para a maçã, pêssego e figo, a polifenol oxidase mostrou-se muito sensível àquele tratamento químico, conseguindo-se 100% de inativação na menor concentração usada (0,05%).

Pela Tabela 2 observa-se que a polifenol oxidase da banana, foi também a enzima mais resistente à inativação pelo ácido ascórbico, não sendo totalmente inibida na maior concentração utilizada (1%), enquanto que a polifenol oxidase das outras frutas tiveram 100% de inibição com 0,5% daquele composto químico. A polifenol oxi-

dase do figo foi a que se mostrou mais sensível à inativação pelo ácido ascórbico, sendo 100% inativada na menor concentração usada (0,1%).

Tabela 2. Efeito da adição de ácido ascórbico na atividade da polifenol oxidase em frutas (% de inibição).

Frutas	Ácido ascórbico		
	0,1%	0,5%	1,0%
Pera	22,3	100,0	100,0
Figo	100,0	100,0	100,0
Banana	13,6	46,0	91,1
Maçã	43,0	100,0	100,0
Pêssego	16,7	100,0	100,0

Observando-se as tabelas 1 e 2, constata-se que a polifenol oxidase da banana foi a que se mostrou mais resistente aos tratamentos de inativação aplicados. De um modo geral, os tratamentos aplicados se mostraram capazes de inibir a polifenol oxidase das frutas sendo o metabisulfito considerado o método mais eficiente. O metabisulfito também foi considerado o melhor inibidor no caso da polifenol oxidase do abacate (IADEROSA et alii, 1980) e da manga (PARK et alii, 1980).

Uma visão geral dos resultados pode ser obtida classificando-se as frutas quanto à resistência à inativação (ordem decrescente) da polifenol oxidase aos tratamentos empregados:

Metabisulfito K: banana > pera > figo = maçã = pêssego

Ácido ascórbico: banana > pêssego > pera > maçã > figo

### Peroxidase em frutas

A Tabela 3 mostra o efeito do metabissulfito de potássio na atividade da peroxidase em frutas. Também neste caso a peroxidase do figo foi a que apresentou a maior resistência à inativação. Na maior concentração usada (0,2%), houve uma redução de apenas 24,1% em sua atividade. Já para a pera e banana, a peroxidase foi bem mais sensível, obtendo-se 100% de inativação na menor concentração usada (0,05%). No caso da maçã e pêssigo houve uma certa resistência à inativação pelo metabissulfito, uma vez que a inibição total da atividade da enzima não foi alcançada, nem mesmo a 0,2% (maior concentração).

Tabela 3. Efeito da adição de metabissulfito de potássio na atividade da peroxidase em frutas (% de inibição).

Frutas	Metabissulfito de potássio		
	0,05%	0,1%	0,2%
Pera	100,0	100,0	100,0
Figo	16,1	21,0	24,1
Banana	100,0	100,0	100,0
Maçã	80,0	80,0	80,0
Pêssigo	58,4	58,4	58,4

Na Tabela 4 está demonstrado o efeito do ácido ascórbico na atividade da peroxidase das frutas. Mais uma vez, a peroxidase do figo foi a que se mostrou mais estável, porém neste caso a inativação total foi conseguida com 1% de ácido ascórbico (maior concentração utilizada). A peroxidase mais sensível a este tratamento foi a da banana, conseguindo-se 100% de inativação na menor concentração usada (0,1%). Com exceção do figo, todas as outras frutas tiveram a peroxidase totalmente inativada com 0,5% de ácido ascórbico.

Tabela 4. Efeito da adição de ácido ascórbico na atividade da peroxidase em frutas (% de inibição).

Frutas	Ácido ascórbico		
	0,1%	0,5%	1,0%
Pera	50,0	100,0	100,0
Figo	0,8	99,3	100,0
Banana	100,0	100,0	100,0
Maçã	0,0	100,0	100,0
Pêssego	48,0	100,0	100,0

Pelas tabelas 3 e 4, observa-se que a peroxidase do figo foi a mais resistente aos tratamentos aplicados. Nas outras frutas a peroxidase apresentou menor resistência aos tratamentos, especialmente a da banana, que se mostrou como a mais sensível. O metabissulfito foi menos eficiente que o ácido ascórbico.

Uma visão geral dos resultados pode ser obtida classificando-se as frutas quanto à resistência à inativação (ordem decrescente) da peroxidase aos tratamentos empregados:

Metabissulfito K: figo > pêssego > maçã > pera = banana

Ácido ascórbico: figo > maçã > pêssego > pera > banana

### Polifenol oxidase em hortaliças

Dentre as hortaliças estudadas, somente na couve-flor e no palmito foi constatada atividade da polifenol oxidase, sendo a maior atividade registrada no palmito (base).

A Tabela 5 mostra o efeito inibidor do metabissulfito de potássio na atividade da polifenol oxidase em

hortaliças. A polifenol oxidase da couve-flor foi a mais sensível, sendo totalmente inativada a 0,05% (menor concentração usada). Já a polifenol oxidase do palmito se mostrou muito resistente, não sendo totalmente inativada nem mesmo na maior concentração usada (0,2%). Nesta concentração, obteve-se uma inibição de 96% e 76,1%, respectivamente para a enzima da ponta e da base do creme.

Tabela 5. Efeito da adição de metabissulfito de potássio na atividade da polifenol oxidase em hortaliças (% de inativação).

Hortaliças	Metabissulfito de potássio		
	0,05%	0,1%	0,2%
Cenoura	-	-	-
Couve-flor	100,0	100,0	100,0
Batata	-	-	-
Palmito (ponta)	36,0	56,0	96,0
Palmito (base)	13,1	37,0	76,1

Quanto ao efeito do ácido ascórbico na polifenol oxidase das hortaliças (Tabela 6), verifica-se que ele foi eficiente nas concentrações usadas, para inativar totalmente a polifenol oxidase da couve-flor, o mesmo não acontecendo com a polifenol oxidase do palmito. A enzima extraída da base mostrou uma resistência bem maior à inativação pelo ácido ascórbico. Na maior concentração usada (1,0%), enquanto a polifenol oxidase da ponta teve sua atividade reduzida em 96,6% a da base teve uma redução de apenas 6,8%. Nas concentrações utilizadas, portanto, o ácido ascórbico pode ser considerado ineficiente para controlar o escurecimento da base do creme do palmito.

Tabela 6. Efeito da adição de ácido ascórbico na atividade da polifenol oxidase em hortaliças (% de inibição).

Hortaliças	Ácido ascórbico		
	0,1%	0,5%	1%
Cenoura	-	-	-
Couve-flor	100,0	100,0	100,0
Batata	-	-	-
Palmito (ponta)	41,4	89,7	96,6
Palmito (base)	0,0	3,4	6,8

Pelas tabelas 5 e 6, observa-se que a polifenol oxidase do palmito, principalmente a da base do creme, foi a que mostrou maior resistência aos tratamentos de inativação. A polifenol oxidase da couve-flor foi, por sua vez, a mais sensível. O metabissulfito foi o tratamento mais eficiente.

Uma visão geral dos resultados pode ser obtida classificando-se as hortaliças quanto à resistência à inativação (ordem decrescente) da polifenol oxidase aos tratamentos aplicados:

Metabissulfito K:

palmito (base) > palmito (ponta) > couve-flor

Ácido ascórbico:

palmito (base) > palmito (ponta) > couve-flor

### **Peroxidase em hortaliças**

A peroxidase mostrou ser a enzima mais abundante e mais ativa nas hortaliças, sendo neste caso a mais importante.

O metabissulfito de potássio (Tabela 7) não foi um bom inibidor, pois em todas as hortaliças, a peroxidase mostrou-se resistente à inativação por esse tratamento. A mais resistente, também neste caso, foi a peroxidase do palmito (base). Na maior concentração utilizada houve uma redução de apenas 3,3% em sua atividade. Dentre as hortaliças, a peroxidase da cenoura foi a que se mostrou mais sensível ao metabissulfito, embora tenha tido uma redução de apenas 33,8% em sua atividade na concentração mais elevada desse composto químico (0,2%).

Tabela 7. Efeito da adição de metabissulfito de potássio na atividade da peroxidase em hortaliças (% de inativação).

Hortaliças	Metabissulfito de potássio		
	0,05%	0,1%	0,2%
Cenoura	22,5	30,4	33,8
Couve-flor	2,8	3,3	5,5
Batata	11,8	14,9	21,3
Palmito (ponta)	4,1	8,2	13,6
Palmito (base)	2,8	2,8	3,3

Também no tratamento com ácido ascórbico (Tabela 8) a peroxidase do palmito (base) foi a mais resistente à inativação, pois na maior concentração usada (1%), houve uma redução de apenas 8,5% em sua atividade. A peroxidase que demonstrou maior sensibilidade a este tratamento foi a de cenoura, vindo logo em seguida, a batata. Entretanto, no caso da batata, ao invés de inativar a enzima, o ácido ascórbico, na concentração de 0,1% promoveu sua ativação, pois a atividade encontrada foi sempre maior do que a obtida na enzima da hortaliça sem tratamento (*in natura*). Não foi encontrada explicação para este fenômeno. Com a peroxidase da couve-flor e palmito (ponta) não se conseguiu inativação total, mesmo na concentração de 1%.

Tabela 8. Efeito da adição de ácido ascórbico na atividade da peroxidase em hortaliças (% de inativação).

Hortaliças	Ácido ascórbico		
	0,1%	0,5%	1,0%
Cenoura	10,8	100,0	100,0
Couve-flor	2,8	15,8	97,3
Batata	0,0	98,6	100,0
Palmito (ponta)	18,8	36,3	55,1
Palmito (base)	2,9	5,1	8,5

Dentre as hortaliças estudadas, a peroxidase do palmito foi a que se mostrou mais resistente à inativação, principalmente a extraída da base do creme. Por outro lado, a peroxidase da cenoura foi a que ofereceu menor resistência aos tratamentos aplicados. Mais uma vez o metabissulfito não se mostrou um inibidor eficiente para a peroxidase nas concentrações utilizadas. É importante ressaltar ainda, que nenhum dos tratamentos aplicados foi suficiente para inativar de maneira adequada a peroxidase de palmito (ponta e base).

Uma visão geral dos resultados pode ser obtida classificando-se as hortaliças quanto à resistência à inativação (ordem decrescente) da peroxidase aos tratamentos empregados:

Metabissulfito K: palmito (base) > couve-flor > palmito (ponta) > batata > cenoura

Ácido ascórbico: palmito (base) > palmito (ponta) > couve-flor > batata > cenoura

## CONCLUSÕES

O ácido ascórbico foi considerado o melhor método de inativação para a peroxidase das frutas e hortaliças. Já para a polifenol oxidase das frutas e hortaliças, o  $\text{SO}_2$  foi mais eficiente, porém mostrou-se inadequado para controlar a atividade da peroxidase em quase todos os produtos estudados. Nenhum dos tratamentos aplicados se revelou eficiente para controlar a atividade da peroxidase do palmito (ponta e base).

## SUMMARY

### EFFECT OF $\text{SO}_2$ AND ASCORBIC ACID ON POLYPHENOL OXIDASE AND PEROXIDASE ACTIVITIES OF SOME FRUITS AND VEGETABLES

The objective of this work was to study the effect of  $\text{SO}_2$  and ascorbic acid on polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (PO) activities in some fruits and vegetables.

For the fruits and vegetables PO, ascorbic acid was considered the best method of inactivation. On the other hand, for the fruits and vegetables PPO,  $\text{SO}_2$  was the most effective method, but did not control PO activity in almost all products studied. A combination of the two compounds used ( $\text{SO}_2$  and ascorbic acid) seems to be the adequate method to control simultaneously both enzyme activities.

## AGRADECIMENTO

Ao CNPq pelo auxílio concedido.

## LITERATURA CITADA

- ADAMNS, J.B.; BLUNDSTONE, H.A.W., 1971. Canned fruits other than citrus. In: HULME, A.C. ed. **The Biochemistry of Fruits and Their Products**. London, Academic Press, vol. 2, p. 507-541.
- BAUERNFEIND, J.C.; PINKERT, D.M., 1970. Food processing with added ascorbic acid. **Advances in Food Research**, New York, 18: 219-315.
- BOUCHILLOUX, S., 1962. Enzymatic browning reactions: In: RONECKLES, V.C., ed. **Plant Phenolics and Their Industrial Significance**. Montreal, Imperial Tobacco Co., p. 1-14.
- CORSE, J., 1964. The enzymatic browning of fruits and vegetables. In: RONECKLES, V.C., ed. **Phenolic in Normal and Diseased Fruits and Vegetables**. Montreal, Imperial Tobacco Co., p. 41-62.
- EMBS, R.J.; MARKAKIS, P., 1965. The mechanism of sulfite inhibition of browning caused by polyphenoloxidase. **Journal of Food Science**. Chicago 30(5): 753-758.
- ESKIN, N.A.M.; HENDERSON, H.M.; TOWNSEND, R.J., 1971. **Biochemistry of Foods**. London, Academic Press, 239 p.
- FERHRMANN, H.; DIAMOND, A.E., 1967. Peroxidase activity and Phytopora resistance in different organs of the potato plant. **Phytopathology**. Lancaster 57: 69-72.
- FRANCIS, F.J.; AMLA, B.J., 1961. Effect of residual sulphur dioxide on the quality of prepeeled potatoes. **American Potato Journal**. New Jersey 38: 89-94.
- GUTTERSON, M., 1971. **Vegetable Processing**. Park Ridge, Noyes Data, 335 p.
- HAISMAN, D.R., 1974. Effect of sulfur dioxide on oxidizing enzyme systems in plant tissues. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London 25(7): 803-810.

- IADEROZA, M.; DRAETTA, J.S.; PADULA, M., 1980. Polifenoloxidase da polpa de duas cultivares de abacate. **Coletânea do ITAL**. Campinas 11: 53-64.
- MATHEW, A.G.; PARPIA, H.A.B., 1971. Food browning as a polyphenol reaction. **Advances in Food Research**. New York 19: 75-145.
- MUNETTA, P., 1966. Bissulfite inhibition of enzymatic blackening caused by tyrosine oxidation. **American Potato Journal**. New Jersey 43: 397-402.
- NOGUEIRA, J.N., 1973. Influência de alguns métodos de controle do escurecimento enzimático nas propriedades organoléticas da maçã Bruckner do Brasil conservada por congelamento e liofilização. **Anais da ESALQ**. Piracicaba 30: 375-384.
- PARK, Y.R.; SATO, H.H.; ALMEIDA, T.D., MORETTI, R.H., 1980. Polifenoloxidase de manga (*Mangifera indica* var. Haden). In: 32ª Reunião Anual da SBPC, Rio de Janeiro, p. 56 (Resumos).
- PONTING, J.D.; JOSLYN, M.A., 1948. Ascorbic acid oxidation and browning in apple tissue extracts. **Archives of Biochemistry**. New York 19: 47-63.
- PONTING, J.D., 1960. The control of enzymatic browning of fruits. In: SCHULTZ, H.W., ed., **Food Enzymes**. Westport, AVI, p. 105-124.
- REED, G.; UNDERKOFER, L.A., 1966. **Enzymes in Food Processing**. 2ª ed. New York, Academic Press. 483 p.
- ROBERTS, A.C.; McWEENEY, D.J., 1972. The uses of sulphur dioxide in the food industry. **Journal of Food Technology**. London 7: 221-228.
- WHITAKER, J.R., 1976. Fundamental aspects of enzymology. In: COOLER, F.W., ed., **Enzymes Use and Control in Foods**. Anaheim, IFT, p. 2-13.