UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

INFLUÊNCIA DA SANITIZAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO NOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE MANGA 'PALMER' *IN NATURA* E PROCESSADA

KAMILA DE ALMEIDA MONACO

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp – Campus de Botucatu, para obtenção do titulo de Doutor em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU-SP
Dezembro- 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

INFLUÊNCIA DA SANITIZAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO NOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE MANGA 'PALMER' *IN NATURA* E PROCESSADA

KAMILA DE ALMEIDA MONACO

Orientadora: Profª Drª Giuseppina Pace Pereira Lima
Co-orientador: Prof° Dr° Juan Saavedra del Aguila

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp – Campus de Botucatu, para obtenção do titulo de Doutor em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU-SP
Dezembro- 2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Monaco, Kamila de Almeida, 1985-
M734i Influência da sanitização e do armazenamento nos compostos bioativos de manga 'Palmer' *in natura* e processada / Kamila de Almeida Monaco. - Botucatu : [s.n.], 2015
xi, 129 f. : grafs. color., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2015
Orientador: Giuseppina Pace Pereira Lima
Coorientador: Juan Saavedra Del Aguila
Inclui bibliografia

1. Água - Ozonização. 2. Manga (Fruta)- Pós-colheita. 3. Agricultura orgânica. 4. Antioxidantes. I. Lima, Giuseppina Pace Pereira. II. Del Aguila, Juan Saavedra. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. IV. Título.

unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE CIENCIAS AGRONOMICAS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: **INFLUÊNCIA DA SANITIZAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO NOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE MANGA 'PALMER' *in natura* E PROCESSADA**

AUTORA: KAMILA DE ALMEIDA MONACO
ORIENTADORA: Profa. Dra. GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. JUAN SAAVEDRA DEL AGUILA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA (HORTICULTURA) , pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA
Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu

Prof. Dr. FABIO VIANELLO
Università degli Studi di Padova - Italia

Prof. Dr. FRANCISCO ARTÉS CALERO
Universidad Politécnica de Cartagena, España

Profa. Dra. CAMILA RENATA CORREA CAMACHO
Faculdade de Medicina/Unesp - Botucatu/SP

Prof. Dr. IGOR OTAVIO MINATEL
Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu

Data da realização: 09 de dezembro de 2015.

Aos meus pais, Antonio e Tania,
aos meus irmãos, Pablo e Isabelle,
Por acreditarem nos meus sonhos
e apoiarem todas as minhas conquistas

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proporcionar os melhor caminhos à seguir e colocar neles pessoas incríveis que me fortalecem nessa caminhada.

À Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP, Campus de Botucatu, especialmente ao Programa de Pós Graduação em Agronomia (Horticultura), por me proporcionar as possibilidade de me formar Doutora.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa no Brasil.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa no exterior como participante do PDSE na Espanha.

A Universidad Politécnica de Cartagena pela possibilidade de executar com êxito as atividades durante meu estágio.

A minha querida amiga e orientadora Giusepppina Pace Pereira Lima, pela paciência, dedicação, por acreditar no meu potencial e estimular meu crescimento profissional.

Ao Dr. Francisco Artés Calero por me orientar durante minha estadia na Espanha e possibilitar meu crescimento profissional.

Ao Dr. Francisco Artés-Hernández pelo auxilio e sugestões durante a pesquisa desenvolvida na Espanha.

Ao Dr. Fabio Vianello por estar sempre disposto a nos auxiliar nas pesquisas.

À Dra. Camila Corrêa pela amizade e por todo o ensinamento proporcionado.

Ao Dr. Igor Minatel por toda ajuda na execução dos trabalhos finais da tese.

Ao Dr. Sergio Costa por me auxiliar e me ensinar às técnicas laboratoriais para o desenvolvimento da tese.

Aos meus pais Antonio e Tania e aos meus irmãos Pablo e Isabelle, pelo amor incondicional e por sonharem meus sonhos junto comigo.

A minha avó Araci e avô Edson (*in memorian),* minha Dindinha Seila e Dindinho Durval por me apoiarem sempre e me ajudarem a alcançar meus objetivos.

Aos meus amigos, do Brasil e Espanha, que estiveram ao meu lado nos momentos de muita risada e desespero, Sarita Monteiro, Aline Borelli, Patricia Zomerfeld, Simone Ensinas, Maria Carolina Monaco, Carime Holanda, Georgia Ferraz, Walquiria Moura, Natalia Brito, Marizete Cavalcante, Willian Takata, Mariana Lozano, Ludmila Fukunaga, Alexandre Mansano, Josiane Pereira, Raquel Cavasini, João Paulo Dias, Rodrigo Sereia, Kelly Nunes, Milena Borguini, Ana Paula Paiva, Ana Claudia Silva, Deise Paula, Ana Paula Ferraz, Camila Belline, Marla Diamante, Mônica Bartira, Luciana Brunelli, Noelia Montoya, Lizette Verástegui, Gerardo Gonzalez, Vicente Díaz, Tâmmila Klug, José Ginez, Maria Jose Sanchez, Natalia Falagan, Javier Rico.

Os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS X
LISTA DE TABELAS XI
RESUMO 1
SUMMARY 4
INTRODUÇÃO GERAL 6
CAPÍTULO I 12
IMPACTO DA ÁGUA OZONIZADA E EFEITO DOS SISTEMAS DE CULTIVO NOS COMPOSTOS BIOATIVOS DURANTE A PÓS-COLHEITA DE MANGA 'PALMER' 12
RESUMO 13
ABSTRACT 14
INTRODUÇÃO 15
MATERIAL E MÉTODOS 16
Material vegetal 16
Amostragem e preparação das amostras 17
Caracterização física e química 19
Firmeza (F), Ph, Acidez titulável (AT) e Sólidos solúveis totais (SS) 19
Caracterização bioquímica 19
Ácido ascórbico (AA) 19
Polifenóis totaiS (PT) 19
β-caroteno 20
Determinação da capacidade antioxidante total 20
Análise microbiológica 21
Delineamento experimental e análise estatística 22
RESULTADOS E DISCUSSÃO 22
Análises microbiológicas 22
Caracterização físico-química 23
Caracterização bioquímica 25
CONCLUSÕES 28

AGRADECIMENTOS 29
REFERENCIAS 29
CAPITULO II 40
AÇÃO DE SANITIZANTES NO CONTEUDO DE AMINAS BIOATIVAS EM MANGAS 40
RESUMO 41
ABSTRACT 41
1.INTRODUÇÃO 42
2. MATERIAL E MÉTODOS 43
2.1 Material vegetal 43
2.2 Sanitizações 43
2.3 Poliaminas por cromatografia de camada delgada (TLC) 44
2.4 Delineamento experimental e análise estatística 44
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 44
4. CONCLUSÃO 47
5. REFERÊNCIAS 47
CAPITULO III 50
EFEITO DE SANITIZANTES NOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DA POLPA E CASCA DE MANGA 50
RESUMO 51
ABSTRACT 51
1. INTRODUÇÃO 52
2. MATERIAL E MÉTODOS 53
2.1. Conteúdo de sólidos solúveis (SS) 53
2.2. Acidez titulável (AT) 54
2.3. Ph 54
2.4. Vitamina C 54
2.5. Teor de proteína total 54
2.6. Carboidratos solúveis totais 54
2.7. Teor de lipídeos 54
2.8. Polifenóis totais 55
2.9. Flavonoides totais 55
2.10. Carotenoides totais 55

2.11. Análise estatística 56
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 56
3.1. Polpa 56
3.2. Polpa e casca 57
4. CONCLUSÃO 58
AGRADECIMENTOS 59
REFERÊNCIAS 59
CAPITULO IV 63
ÁGUA OZONIZADA INDUZ BIOATIVOS DURANTE O AMADURECIMENTO E SENESCÊNCIA DE MANGAS 'PALMER' 63
RESUMO 64
ABSTRACT 65
1. INTRODUÇÃO 66
2. MATERIAL E MÉTODOS 69
2.1. Caracterização do material 69
2.2. Coleta e preparo de amostras 70
2.3. Determinação dos compostos bioativos 71
2.3.1 Aminas bioativas 71
2.3.2. Compostos fenólicoS 72
2.3.3. Ácidos ascórbico e dehidroascórbico 73
2.4. Delineamento experimental e análise estatística 74
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 75
3.1 Aminas bioativas 75
3.2. Compostos fenólicos 82
3.2.1 Flavonoides 82
3.2.2. Ácidos fenólicos 87
3.2.3. Ácidos ascórbico e dehidroascórbico 91
CONCLUSÃO 96
REFERENCIAS 96
CAPITULO V 100
SMOOTHIES A BASE DE MANGA ESTIMULA CONSUMO DE FRUTAS 100
RESUMO 101
ABSTRACT 101

1. INTRODUÇÃO 102
2. MATERIAL E MÉTODOS 102
2.1 Material vegetal e preparação dos *smoothies* 102
2.2 Caracterização físico-química 103
2.2.1 Cor 103
2.2.2 Ph 104
2.2.3 Sólidos solúveis totais 104
2.2.4 Acidez titulável 104
2.3 Análises microbiológicaS 104
2.4 Análise sensorial 105
2.5 Determinação de fenóis totais e atividade antioxidante 105
2.5.1 Dpph 106
2.5.2 Frap 107
2.5.3. Abts 107
2.6. Analise estatística 108
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 108
4. CONCLUSÃO 119
5. REFERENCIAS 120
CONSIDERAÇÕES GERAIS 124
CONCLUSÕES 124
REFERÊNCIAS 125

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO IV

Figura 1. Níveis de putrescina (a), espermidina (b), espermina (c), serotonina (d) e cadaverina (e) em magas 'Palmer' sanitizadas e armazenadas em câmara fria e durante a comercialização simulada.....77
Figura 2. Cromatograma de aminas bioativas observados em manga 'Palmer' convencionais e sanitizadas com água clorada e armazenadas por 7 dias em armazenamento refrigerado seguidas de 8 dias em temperatura ambiente.....78
Figura 3. Níveis de Rutina em mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais, sanitizadas e armazenadas. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (comparam médias entre os dias para cada tratamento) e minúsculas (comparam as médias de cada tratamento entre os dias) não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ($P \geq 0,05$).....83
Figura 4. Cromatograma dos polifenóis observados em manga 'Palmer' convencionais e lavadas com água de abastecimento publico aos 7 dias em armazenamento refrigerado.....84
Figura 5. Cromatograma dos ácidos ascórbico e dehidroascórbico observados em manga 'Palmer' orgânicas sanitizadas com água ozonizada por 10 minutos e armazenadas por 7 dias em armazenamento refrigerado seguidas de 8 dias de armazenamento em temperatura ambiente.....92

CAPITULO V

Figura 1. Fenóis totais em *smoothies* a base de mangas 'Palmer' armazenados. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparam os tratamentos em cada dia de armazenamento) e minúscula (comparam cada tratamento durante o armazenamento) não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($P \geq 0,05$). 112
Figura 2. Capacidade antioxidante em *smoothies* a base de manga determinada através do Dpph (a), Frap (b) e Abts. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparam os tratamentos em cada dia de armazenamento) e minúscula (comparam cada tratamento durante o armazenamento) não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($P \geq 0,05$). 115
Figura 3. Correlação entre os fenóis totais e capacidade antioxidante no *smoothie* 1 (a) e 2 (b). 116
Figura 4. Crescimento microbiológico (mesófilos - a; psicrófilos – b; e fungos e leveduras - c) em *smoothies* a base de manga 'Palmer' durante armazenamento refrigerado. 118
Figura 5. Avaliação sensorial de *smoothies* a base de manga 'Palmer' submetida ao armazenamento refrigerado. 119

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

Tabela 1 Os efeitos de diferentes sanitizantes (cloro e água ozonizada) nas populações de *Salmonella*, coliformes e *Staphylococcus aureus* após a colheita de mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais 32
Tabela 2 Características físico-químicas de mangas 'Palmer' orgânica e convencional submetidas à sanitizações 34
Tabela 3 Efeito da sanitização com cloro e água ozonizada nos compostos bioativos durante a pós-colheita de mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais 36
Tabela 4 Efeito da sanitização com cloro e água ozonizada na atividade antioxidante de mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais 38

CAPITULO II

Tabela 1. Putrescina, Espermidina e Espermina (μg g $^{-1}$) em mangas orgânicas e convencional tratadas com diferentes sanitizantes e submetidas à comercialização simulada.....45

CAPITULO III

Tabela 1. Acidez titulavel (AT), pH, sólidos solúveis (SS), carboidratos solúveis totais, proteína e lipídios na polpa madura e higienizado de manga 'Palmer'.....58
Tabela 2. Níveis de carotenoides, polifenois e flavonoides em polpa e casca de mangas 'Palmer' maduras esanitizadas.....58

CAPITULO IV

Tabela 1. Quercetina em mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais sanitizadas e armazenadas.....86
Tabela 2. Ácidos fenólicos presentes em maga 'Palmer' orgânicas e convencion.ais, sanitizadas e armazenadas.....89
Tabela 3. Ácidos ascórbico e dehidroascoórbico em mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais sanitizadas earmazenadas 93

CAPITULO V

Tabela 1. Composição dos *smoothies* a base de manga.....103
Tabela 2. Caracterização físico-química de smoothies a base de manga 'Palmer' sob armazenamento refrigerado.....110

INFLUÊNCIA DA SANITIZAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO NOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE MANGA 'PALMER' IN NATURA E PROCESSADA. Botucatu, 2015. 129 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista

Autor: KAMILA DE ALMEIDA MONACO

Orientadora: GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a influencia de sanitizantes (ozônio e hipoclorito de sódio) no conteúdo de compostos bioativos e na atividade antioxidante durante o armazenamento refrigerado e na simulação de comercialização de mangas (*Mangifera indica* L.) 'Palmer' cultivadas em sistema orgânico e convencional e verificar as alterações durante o armazenamento de dois diferentes *smoothie*s. Para atingir esse objetivo a tese foi dividida em cinco capítulos, no primeiro as mangas 'Palmer' orgânicas adquiridas no município de Borborema-SP e as convencionais, doadas pela Ogata *Citrus* (Taquaritinga-SP) foram transportadas ao laboratório de Bioquímica, onde foram submetidas a quatro tratamentos de imersão: imersão em água; em água clorada com 100 mg L^{-1} de hipoclorito de sódio por 10 minutos e em água ozonizada por 10 ou 20 minutos. As avaliações foram realizadas após a colheita e aos 7 e 15 dias de armazenamento refrigerado. Aos 7 dias, os frutos foram levados ao ambiente e as avaliações seguiram por 4 e 8 dias, para simular o período de comercialização. Determinaram-se a firmeza da polpa, pH, ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez titulável, polifenóis totais, flavonóides totais, β-caroteno, DPPH e FRAP. As análises microbiológicas foram realizadas após a colheita, aos 7 dias de armazenando refrigerado e aos 7 dias mais 4 em ambiente. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com esquema fatorial 5 x 8 (dias de avaliação x tratamentos) com 3 repetições. Houve uma tendência dos frutos orgânicos e ozonizados apresentarem maiores conteúdos dos compostos bioativos, com isso maior atividade antioxidante, o que evidenciou que o ozônio pode substituir o cloro sem prejuízos aos frutos. No segundo capitulo, foi realizada a quantificação das aminas bioativas das polpas de manga 'Palmer' orgânicas e convencionais, submetidas a quatro tratamentos de sanitização: imersão em água de abastecimento público; em água clorada com 100 mg L^{-1} de

hipoclorito de sódio por 10 minutos e ozonização por 10 e 20 minutos, após a colheita e aos sete dias de armazenamento refrigerado seguido por 4 e 8 dias de armazenamento ambiente a fim de simular o período de comercialização. Ao longo do armazenamento, as características avaliadas não foram influenciadas pelos sanitizantes, sugerindo que o cloro pode ser substituído pelo ozônio sem comprometimento das características de qualidade. No terceiro capitulo, foram determinados o efeito da água ozonizada nos conteúdos de polifenóis totais, flavonoides, carotenoides e vitamina C da polpa e casca manga 'Palmer', que, após a colheita e submetida aos tratamentos de sanitizações por imersão em água, água clorada (10 minutos em hipoclorito de sódio 100 $mg \cdot L^{-1}$) ou água ozonizada por 10 ou 20 minutos, foram armazenadas a 15˚C ± 1˚C e 85% ± 5% UR por 7 dias, seguidos de 4 dias armazenadas em temperatura ambiente (simulando o período de comercialização), totalizando 11 dias após a colheita. As polpas de mangas sanitizadas com água ozonizada por 20 minutos apresentaram maiores valores de acidez titulável, carboidratos totais solúveis, vitamina C, carotenoides e flavonoides. Esses dados sugerem que o uso de água ozonizada pode contribuir para a indução do aumento de compostos antioxidantes. No quarto capitulo, verificou-se as alterações, mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais sanitizadas com água clorada por 10 minutos, água ozonizada por 10 e 20 minutos ou lavadas com água, armazenados em câmara de refrigeração e avaliadas após as colheita, aos 7 dias após a colheita e para simular o tempo de comercialização, aos 7 dias, os frutos foram retirados da câmara fria e mantidos em temperatura ambiente e analisados aos 4 (7 + 4) e 8 (7 + 8) dias. No ultimo dia de comercialização, os níveis de putrescina, espermidina e espermina foram superiores nas mangas orgânicas tratadas com água ozonizada por 20 minutos e o teor de serotonina foi maior nos frutos em comercialização simulada. Os níveis de rutina e quercetina foram superiores nas mangas convencionais. Entre os ácidos fenólicos analisados, os maiores teores foram de ácidos clorogênico e gálico. O conteúdo de ácido ascórbico foi superior ao encontrado para ácido dehidroascórbico. A água ozonizada utilizada na sanitização dos frutos induziu o aumento de compostos bioativos durante o armazenamento, apresentando resultados relevantes, nos frutos senescentes. E, por fim, no quinto capitulo, caracterizou-se *smoohies* a base de manga durante o armazenamento. O experimento foi desenvolvido na Universidade Politécnica de Cartagena, na Espanha. A partir das frutas e hortaliças adquiridas no mercado local, formulou-se duas composições diferentes de *smoothies* : 1- Manga 'Palmer' e limão; 2-

Manga ‘Palmer’; uva verde; limão e gengibre, as quais foram avaliadas aos 0, 4, 7, 11 e 14 dias a 5°C e 0, 4 e 7 dias a 15°C. Ambos *smoothies* são aceitáveis para consumo de acordo com a análise sensorial realizada, considerando, assim, *smoothies* a base de manga como uma excelente opção para estimular o consumo de frutas.

Palavras-chave: água ozonizada; manga; pós-colheita; cultivo orgânico e convencional; capacidade antioxidante; mescla de frutas.

SANITIZERS AND STORAGE INFLUENCE IN MANGO 'PALMER' IN NATURA AND PROCESSED BIOACTIVE COMPOUNDS. Botucatu, 2015. 129 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista

Author: KAMILA DE ALMEIDA MONACO

Adviser**:** GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the influence of sanitizers (ozone and sodium hypochlorite) in the bioactive compounds content and antioxidant activity during cold storage and marketing simulation grown in mango (*Mangifera indica* L.) grown in organic and conventional system and verify changes during storage of two different *smoothies*. To achieve this thesis objective was divided into five sections, the first the mango 'Palmer' organic acquired in Borborema-SP and conventional, donated by Ogata *Citrus* (Taquaritinga-SP) were transported to the laboratory of Biochemistry, which were submitted four immersion treatments: immersion in water; in chlorinated water with 100 mg L^{-1} of sodium hypochlorite for 10 minutes and ozonated water for 10 and 20 minutes. The evaluations were performed after harvest and at 7 and 15 days of cold storage. At 7 days, fruit were taken to the environment and evaluations followed by 4 and 8 days, to simulate marketing period. Were determined firmness, pH, ascorbic acid, soluble solids, titratable acidity, total polyphenols, total flavonoids, β-carotene, DPPH and FRAP. The microbiological analyzes were carried out after harvest, after 7 days of cold storage and 7 days over 4 environment. The design was completely randomized (CRD) with factorial 5 x 8 (day trial x treatments) with three repetitions. There was a trend of organic fruit and ozonated have higher bioactive compounds contents, therefore higher antioxidant activity, which shows that ozone could replace chlorine without damage to fruit. In the second chapter, it performed the bioactive amines quantification of the pulp mango 'Palmer' organic and conventional, undergo four sanitization treatments: immersion in the tap water; in chlorinated water with 100 mg L^{-1} of sodium hypochlorite for 10 minutes and ozonization for 10 and 20 minutes postharvest and after seven days of cold storage followed by 4 and 8 setting storage days in order to simulate the period commercialization. During storage, the characteristics were not influenced by sanitizers, suggesting that chlorine can be replaced by ozone without compromising quality features. The third chapter, determined the ozonated water effect in the total

polyphenol contents, flavonoids, carotenoids and vitamin C in pulp and peel mango ‘Palmer’, which postharvest and subjected to sanitization treatment by immersion in water, chlorinated water (10 minutes in sodium hypochlorite · 100 mg L^{-1}) or ozonated water for 10 or 20 minutes were stored at 15°C ± 1°C and 85% ± 5% RH for 7 days followed by 4 days stored at room temperature (simulating the trading period), totaling 11 days after harvest. Mango pulp sanitized with ozonated water for 20 minutes had higher titratable acidity levels, soluble carbohydrates, vitamin C, carotenoids and flavonoids. These data suggest that the use of ozonated water may contribute to the increased induction antioxidant compounds. In the fourth chapter, the changes are there, mangos 'Palmer' organic and conventional sanitized with chlorinated water for 10 minutes, ozonated water for 10 to 20 minutes or washed in water, cold storage chamber and evaluated after harvest at 7 days after harvesting and to simulate shelf-life, at 7 days, the fruits were removed from the refrigeration, maintained at room temperature and analyzed at 4 (7 + 4) and 8 (7 + 8) days. On the last day of trading, putrescine, spermidine and spermine levels were higher in organic mangoes treated with ozonated water for 20 minutes and serotonin content was higher in shelf-life simulated fruit. lLevels of rutin and quercetin were higher in conventional mango. Among the phenolic acids analyzed, the largest contents of chlorogenic acid and gallic. Ascorbic acid content was higher than that found to dehydroascorbic acid. Ozonated water induced increase of bioactive compounds during storage, with significant results in senescent fruit. And finally, in the fifth chapter, it is characterized smoothies mango during storage. The experiment was conducted at the Universidad Politécnica de Cartagena, Spain. Fruit and vegetables bought at the local market, made up of two different compositions smoothies: 1- Mango 'Palmer' and lemon; 2- Mango 'Palmer'; green grape; lemon and ginger, which were evaluated at 0, 4, 7, 11 and 14 days at 5°C and 0, 4 and 7 days at 15°C. Both smoothies are acceptable for consumption according to sensory analysis, considering thus mango smoothies as an excellent option to stimulate fruit consumption.

Keywords: ozonated water; mango, postharvest, organic and conventional system, antioxidant capacity, blend of fruits.

INTRODUÇÃO GERAL

A mangueira pertence à família *Anacardiaceae*, do gênero *Mangifera* e sua espécie, *Mangifera indica*, L., é tida como a espécie mais representativa comercialmente entre cerca de 39 que compõem o gênero (SCALISE et al., 2009).

São mais de 500 variedades de manga conhecida, destas, no Brasil, são cultivadas cerca de 30 (GOMES, 2010). Dentre as variedades de manga exploradas, destacam-se a 'Tommy Atkins', a 'Palmer', a 'Kent' e a 'Keitt' (MENTEN, 2010) Caracterizada por ser uma variedade semi-anã, de copa aberta, originada na Flórida, a variedade 'Palmer' apresenta frutos com casca de cor roxa quando "de vez" e vermelhos quando maduros. A polpa é amarelada, firme, bom sabor (21,6º Brix), com pouca ou nenhuma fibra. As sementes são monoembriônicas e compridas. Apresenta boa vida de prateleira, produções regulares e é bem aceita no mercado interno. A produção é tardia, permitindo prolongamento do período das safras, e responde ao manejo da indução floral com paclobutrazol (COSTA & SANTOS, 2004). Com isso, a 'Palmer' tem crescido em importância (TEIXEIRA et al., 2011).

O cultivo da mangueira em quase todas as regiões do Brasil evidencia o seu potencial de expansão, produção e área cultivada (MENDONÇA et al., 2003). A manga integra, assim, o elenco das frutas tropicais de importância econômica (BRANDÃO et al., 2003). Uma vez que a mangicultura é uma das principais atividades do agronegócio frutícola do Brasil, apresentando desempenho crescente nos últimos anos, a ampliação da sua participação nas exportações mundiais, gera empregos e renda em todo o território nacional (ALMEIDA et al., 2005).

Consumidores mais conscientes sobre a importância da seleção de alimentos saudáveis na prevenção de doenças e na melhoria da qualidade de vida elevaram a procura de produtos com apelo funcional e alto potencial antioxidante, entre os quais, a manga é considerada importante fonte de fitoquímicos antioxidantes, dentre os quais se destacam os polifenóis, os carotenoides e a vitamina C (MELO et al., 2006).

Em relação aos compostos bioativos, que apresentam um papel fundamental na capacidade antioxidante dos vegetais. Como rica fonte de carotenoides, precursores da vitamina A, as mangas apresentam valor máximo em frutos maduros e entre eles, o β-caroteno é considerado o melhor combatente dos radicais livres (ALMEIDA et al, 2005).

Ainda entre os compostos com ação antioxidantes, os polifenóis possuem uma série de propriedades farmacológicas que os tornam atuantes nos sistemas biológicos. Inúmeros estudos têm sido realizados avaliando seus efeitos antioxidantes, visando à prevenção de doenças crônico-degenerativas, como doenças cardiovasculares, aterosclerose, artrite reumatóide, entre outras (LOPES, et al. 2003). E os flavonoides, os quais estudos sugerem que exibem várias atividades biológicas, incluindo antialérgica, antiviral, antitumoral, ações anti-inflamatórias e antioxidantes (HARBONE & WILLIAMS, 2000).

Igualmente entre os compostos com atividade antioxidante, as poliaminas, que também possuem várias funções biológicas, estão envolvidas na duplicação e diferenciação celular, no metabolismo de regulação e estabilização de membranas e ácidos nucleicos, e ainda atuam como mensageiros secundários (LARQUÉ et al., 2007), possuem concentração que pode variar em todos os tipos de células, sendo os níveis mais elevados encontrados em tecidos com alta taxa de crescimento (MOINARD et al., 2005).

Entretanto, poucos estudos estão descritos na literatura quanto aos tipos e teores de poliaminas em frutas (GLÓRIA, 2005). De forma geral, as frutas são ricas em putrescina e espermidina, contendo pouca ou quase nenhuma espermina. (BARDÓCZ, 1995). Porém, os níveis de putrescina e espermidina declinam entre o estágio imaturo e maduro (LEITE et al., 2012).

Contudo, o conhecimento da composição dos alimentos em compostos antioxidantes facilita a identificação da relação entre a dieta e a prevalência de enfermidades crônicas, além de viabilizar a definição da magnitude das inadequações dietéticas e oferecer subsídios para a educação alimentar e para o estabelecimento de metas e guias alimentares que promovam estilos de vida mais saudáveis (RIBEIRO, 2006).

Porém, os níveis desses compostos podem variar entre as espécies vegetais, época de cultivo, sistemas de cultivo (orgânico e convencional), temperatura e tempo de armazenamento entre outras características de pré e pós-colheita. Já que para o consumo 'in natura' da manga, além das exigências de aparência, firmeza, cor e odor, denota-se que as principais limitações são as características físico-químicas, conservação, embalagem e transporte (CRUZ et al., 2010).

Em meio aos fatores de pré-colheita, destaca-se o cultivo orgânico, o qual apresenta aceitação superior ao convencional, pois é descrito como isento de resíduos de pesticidas e com maior qualidade nutricional (MARCHIORI, 2006).

Embora haja uma grande demanda por produtos orgânicos, são escassas as informações disponíveis aos órgãos governamentais, comerciantes e consumidores, o que restringe as conclusões definitivas a respeito da qualidade nutricional destes produtos em relação aos convencionais e merecem atenção devido ao mercado em expansão (MARCHIORI, 2006; BORGUINI & TORRES, 2006; LOZOWICKA et al., 2012).

Para reduzir essas perdas após a colheita, provocadas, por exemplo, pelas doenças, e para que essa cultura seja economicamente competitiva no mercado, é necessário que se busquem tecnologias de produção e eficientes técnicas de preservação pós-colheita. Entre essas técnicas se têm os métodos de sanitização.

Ainda é muito utilizado no Brasil o método de sanitização química à base de compostos clorados, especialmente os sais de hipoclorito sob a forma

de água clorada, porém, esse método, segundo RODGERS et al. (2004), apresenta algumas desvantagens, como formação de resíduos organoclorados, trialometanos e ácidos haloacéticos, que são mutagênicos, tóxicos e carcinogênicos.

Em países como Alemanha, Bélgica e Holanda o cloro é proibido. Em outros países da Europa, sua aplicação como sanitizante em vegetais é restrita, uma vez que resíduos clorados ou seus subprodutos devem estar ausentes no produto para o consumo final. Nos EUA, o hipoclorito de sódio pode ser usado desde que seguido de lavagem em água da rede de abastecimento para remover o máximo possível de alguns resíduos clorados. Além disso, consumidores de produtos orgânicos em todo mundo rejeitam o uso da água clorada na sua sanitização (KIM et al., 2003; BAUR et al., 2004; MCGLYNN, 2004; VAROQUAUX, 2006).

Uma das alternativas pode ser a utilização de ozônio (O_3), usado como agente antimicrobiano desde o final do século 19 para purificar a água potável (GRAHAM, 1997). Atualmente é utilizado em mais de 30 setores diferentes devido à sua alta capacidade oxidante e porque é eficaz em um espectro muito mais amplo de microrganismos do que o cloro e outros desinfetantes (XU,1999).

O uso de O_3 possui várias vantagens sobre outros oxidantes químicos, seus precursores são abundantes e economicamente vantajosos e pode ser utilizado em estado gasoso ou aquoso, dependendo do produto (GRAHAM, 1997; GUZEL-SEYDIM et al., 2004; CROWE et al., 2007).

Além da sua atividade antimicrobiana contra uma vasta gama de microrganismos, o O_3 pode destruir resíduos químicos e converter materiais orgânicos não biodegradáveis, em biodegradáveis (RODGERS et al., 2004). Ao mesmo tempo, devido à sua rápida decomposição ao oxigênio e ao fato de que ele não deixa resíduos nos produtos tratados, a sua aplicação no processamento de alimentos é permitidos pela certificação orgânica (SELMA et al., 2008).

No entanto, deve-se considerar que a exposição à elevadas concentrações de O_3 pode causar alguns efeitos prejudiciais à saúde, o que leva a necessidade da utilização de equipamentos de proteção individual.

Nos Estados Unidos e no Reino Unido foram especificados um limite de 0,1 ppm para exposição contínua no ambiente de trabalho durante um período de 40 horas semanais e 0,3 ppm para um período de 15 minutos (KARACA & VELIOGLU, 2007).

Aplicações industriais inovadoras e melhorias na tecnologia de ozonização, juntamente com novas medidas regulamentares, têm surgido em todo o mundo nos últimos anos, tornando o seu uso na indústria de alimentos mais fácil. Esta tecnologia tem atraído considerável interesse comercial. Entretanto, frequentemente são encontrados na bibliografia certa discrepância em relação à eficácia desta tecnologia, o que torna necessária a realização de mais pesquisas. Estas alterações podem ser atribuídas a uma grande variabilidade nas condições de trabalho da pesquisa, como o método de produção de ozônio, aplicação, concentração de O_3 e tempo de exposição (HORVITZ & CANTALEJO, 2014).

Em vegetais, devido à sua forte atividade oxidante, se for indevidamente utilizado, o O_3 pode causar alguns efeitos deletérios sobre o produto tratado como lesões fisiológicas e estresse oxidativo nos tecidos vegetais (FORNEY, 2003; KARACA, 2010).

Alguns dos sintomas destas lesões são escurecimentos, corrosão, aumento de deterioração e perda de peso, descoloração de fruto, entre outros (FORNEY, 2003). A sensibilidade de um vegetal ao O_3 pode variar de acordo com as espécies e até mesmo com as variedades de uma mesma espécie (RICE et al., 1982). Tal fato deve ser considerado antes de um tratamento com O_3 para evitar danos aos vegetais.

Beltrán et al. (2005) estudando se a água ozonizada aumentaria a vida de prateleira de alface minimamente processadas, concluíram que a água ozonizada pode ser uma excelente alternativa para lavar a alface, não só pela redução populações microbianas no produto, mas também por manter a qualidade visual e controlando escurecimento sem qualquer efeito prejudicial sobre os componentes antioxidantes.

Além de buscar tecnologias que estendam a vida útil de produtos vegetais, estimular o consumo é essencial. *Smoothies* de frutas são uma maneira popular e conveniente de consumir frutas. Como *smoothies* contêm uma mistura de conteúdos intracelulares a partir de diferentes componentes de frutas, a mistura pode apresentar comportamento bioquímico muito diferente do que quando as frutas são consumidas individualmente (KEENAN et al., 2012).

Smoothies é um termo utilizado desde os anos 70, principalmente no Reino Unido e EUA, posteriormente na Alemanha. A sua produção é

baseado no uso do total de frutas, como polpa processada ou purê, parcialmente com pedaços. As sementes e cascas são removidas (QIAN, 2006).

Assim, em um mercado no qual os consumidores estão exigindo produtos da mais alta qualidade que seja prático, rótulo conciso, minimamente processado, que apresente boa aparência, aroma e sabor frescos (OEY et al., 2008), com os *smoothies* é permitido criar diferentes sabores e permitir uma textura mais aceitável. Os quais são caracterizados por uma elevada concentração de nutrientes com baixo teor de energia.

Como pesquisadores têm buscado sanitizantes alternativos que sejam eficientes contra microrganismos patogênicos e deterioradores de alimentos, que não tragam riscos aos seres humanos e tão pouco ao meio ambiente, além de estimular o consumo de frutas devido aos seus inúmeros benefícios, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as alterações na atividade antioxidante e nos compostos bioativos de frutos de mangueira 'Palmer', cultivados em sistema orgânico e convencional, submetidos à diferentes sanitizações e armazenadas, além de avaliar as alterações físico-químicas, bioquímica e microbiológicas de *smoothies* a base de manga armazenados em diferentes temperaturas.

Para atingir estes objetivos a tese foi dividida em 5 capítulos, sendo o primeiro capitulo "IMPACTO DA ÁGUA OZONIZADA E EFEITO DOS SISTEMAS DE CULTIVO NOS COMPOSTOS BIOATIVOS DURANTE A PÓS-COLHEITA DE MANGA 'PALMER'" redigido conforme as normas da revista Food and Bioprocess Technology: An International Journal, o segundo capítulo intitulado "AÇÃO DE SANITIZANTES NO CONTEUDO DE AMINAS BIOATIVAS EM MANGAS", redigido conforme as normas da revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, o terceiro capitulo intitulado "EFEITO DE SANITIZANTES NOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DA POLPA E CASCA DE MANGA", redigido conforme as normas da revista Food and Nutrition Sciences, o quarto capitulo intitulado ÁGUA OZONIZADA INDUZ BIOATIVOS DURANTE O AMADURECIMENTO E SENESCÊNCIA DE MANGAS 'PALMER' redigido conforme as normas da revista Postharvest Biology and Technology e o quinto capítulo intitulado "*SMOOTHIE*S A BASE DE MANGA ESTIMULA CONSUMO DE FRUTAS" redigido conforme as normas da revista LWT- Food Science and Technology.

Capítulo I

IMPACTO DA ÁGUA OZONIZADA E EFEITO DOS SISTEMAS DE CULTIVO NOS COMPOSTOS BIOATIVOS DURANTE A PÓS-COLHEITA DE MANGA ‘PALMER

Impacto da água ozonizada e efeito dos sistemas de cultivo nos compostos bioativos durante a pós-colheita de manga 'Palmer'

Resumo

Compostos bioativos durante a pós-colheita de mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais foram avaliadas após sanitização com água ozonizada. Os frutos foram armazenados em câmara de refrigeração por 15 dias após serem tratados com sanitizantes (água, cloro e agua ozonizada- 10 e 20 min) e avaliados após a colheita, aos 7 e 15 dias. Para simular a comercialização, após 7 dias, os frutos foram removidos da câmara fria e mantidos em temperatura ambiente, para serem analisados aos 4 (7+4) e 8 (7+8) dias. Frutos convencionais apresentaram maior firmeza, independentemente do sanitização utilizada. Mangas 'Palmer' orgânicas contém maior teor de ácido ascórbico do que as convencionais e a água ozonizada utilizada não induziram alterações no teor de ácido ascórbico. Água ozonizada não alterou significativamente β-caroteno e níveis de fenol nas mangas orgânicas e convencionais ou durante o armazenamento em câmara fria, mas quando as mangas orgânicas foram transferidas para a temperatura ambiente, o nível de β-caroteno aumentou. Mangas cultivadas organicamente mostraram níveis mais altos de atividade antioxidante. O uso de água ozonizada não provocou a redução dos compostos antioxidantes analisados e foi eficiente para manter os frutos sem micro-organismos, impedindo a redução da qualidade e evitando a geração de resíduos orgânicos.

Palavras-chave

Agricultura Orgânica; antioxidantes; β - caroteno; Fenol; Qualidade dos frutos

Impact of ozonated water and cropping systems effects on bioactive compounds during mango 'Palmer' postharvest

Abstract

Bioactive compounds during the postharvest of organic and conventional mangoes 'Palmer' were evaluated after sanitization with ozonated water. Fruit were stored in a cold chamber for 15 days and evaluated after the harvest and sanitization treatments (water, chlorine and ozonated water – 10 and 20 min) at 7 and 15 days. To simulate the market, after 7 days, fruit were removed from the cold storage and kept at room temperature, to be analyzed following 4 (7 + 4) and 8 (7 + 8) days. Conventional fruit showed higher firmness, regardless of the sanitization system used. Organic mango 'Palmer' contains higher ascorbic acid content than conventional ones and the ozonated water utilized not induced alterations on ascorbic acid content. Ozonated water did not significantly alter β-carotene and phenol levels in organic or conventional mangoes during storage in cold chamber, but when the organic mangoes' were transferred to room temperature, the β-carotene level increased. Organically cultivated mangoes show higher levels of antioxidant activity. The use of ozonated water does not induce reduction of the analyzed antioxidant compounds and it was efficient for maintaining fruit without microorganisms, preventing the reduction of quality, and avoiding the generation of organic waste.

Keywords

Organic Farming; Antioxidants; β-carotene; Phenol; Fruit quality

Introdução

As frutas são uma fonte rica de compostos antioxidantes, tais como vitaminas (ácido ascórbico, carotenoides, tocoferol), minerais e polifenóis, a ingestão destes compostos está associada à redução do risco de doença. A manga é uma fruta de particular importância devido ao seu valor nutricional e sabor agradável. No entanto, as perdas pós-colheita em mangas têm sido estimada entre 25% a 40% entre a colheita e a fase de consumo (Ravindra & Goswami, 2007). Por esta razão, tecnologias eficazes, tais como sistemas de cultivo e métodos de sanitização, são desejáveis para assegurar uma vida de prateleira mais longa e qualidade de frutos.

Nos últimos anos, a demanda por alimentos orgânicos aumentou. Muitos estudos têm demonstrado que os vegetais cultivados organicamente têm um elevado teor de antioxidantes, como a vitamina C, compostos fenólicos, sais minerais, poliaminas, entre outros (Lima & Vianello, 2011). Para a sanitização de vegetais orgânicos, alguns produtos são proibidos, como o cloro. Este pode formar compostos clorados cancerígenos, tais como trihalometanos, causando sérios problemas para a saúde humana e ao ambiente (Yeoh et al., 2014). Com isso, a água ozonizada tem sido estudada como uma forma segura de sanitização em vários produtos vegetais, tais como brócolis (Lima et al., 2014), pimentão (Alwi & Ali, 2015), entre outros.

Alguns estudos têm demonstrado que a exposição da planta ao ozônio aumenta o teor de fenóis totais (Alothman et al., 2010; Yeoh et al., 2014), ácido ascórbico (Alwi & Ali, 2015) e outras moléculas com atividade antioxidante (Lima et al. 2014). No entanto, poucos estudos têm sido realizados sobre o uso de ozônio como sanitizante em frutas ou vegetais orgânicos (Lima et al., 2014).

O ozônio é um gás com ação oxidante e este efeito é devido à ação de oxidação de ácidos graxos poli-insaturados ou enzimas, peptídeos e proteínas, o que favorece a degradação da membrana celular, resultando em ruptura celular e o vazamento subsequente do conteúdo celular (Das et al., 2006). Devido a esta ação oxidante, alguns vegetais e frutas tratadas com ozônio tendem a apresentar maior atividade antioxidante (Gonzalez-Aguilar et al., 2007; Yeoh et al., 2014).

Esta ação de oxidação pode ser prejudicial devido à produção de radicais livres. Como alimentos vegetais orgânicos tendem a ter níveis mais altos de compostos antioxidantes, provavelmente quando higienizado com ozônio, podem apresentar um aumento do conteúdo de compostos tais como polifenóis, carotenóides, vitaminas com ação antioxidante, como uma maneira para proteger a célula contra danos promovidos por espécies reativas de oxigênio (ROS) gerados após sanitização.

Portanto, o efeito da sanitização com água ozonizada em alguns compostos antioxidantes da manga 'Palmer' cultivadas em sistemas orgânicos e convencionais foi investigada.

Material e Métodos

Material Vegetal

Mangas (*Mangifera indica* L. cv. Palmer) foram provenientes de pomares comerciais, cultivadas convencional e organicamente. Os frutos produzidos em sistema orgânico foram cultivados na cidade de Borborema, no Estado de São Paulo (latitude 21º 37' 11" S, longitude 49º 04' 25" O e 429 m altitude) e os frutaos produzidos em sistema

convencional foram cultivadas cidade de Taquaritinga, no Estado de São Paulo (latitude 21° 24′ 23″ S, longitude 48° 30′ 20″ O e 579 m altitude).

O solo em ambas as propriedades foi submetido à análise química de rotina (Embrapa, 1997). Os resultados das análises apresentaram as seguintes características na propriedade orgânica: pH ($CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}) 5,5; 11,0 kg m^{-3} de matéria orgânica (MO); 35,0 g m^{-3} de fósforo (P); 0,47 g kg^{-1} de H + Al; 0,09 g kg^{-1} de potássio (K); 0,54 g kg^{-1} de cálcio (Ca); 0,07 g kg^{-1} de magnésio (Mg); 1,41 g kg^{-1} de soma de bases (SB); 1,88 g kg^{-1} de capacidade de troca catiônica (CTC) e saturação de bases (V) de 74.0%. Os níveis de micronutrientes encontrados foram de 25,0 g m^{-3} de enxofre (S); 0,3 g m^{-3} de boro (B); 3,8 g m^{-3} de cobre (Cu); 18,0 g m^{-3} de ferro (Fe); 3,4 g m^{-3} de magnésio (Mn) e 2,7 g m^{-3} de zinco (Zn).

Na fazenda com o sistema convencional, foram encontradas as seguintes características do solo: pH ($CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}) 5,4; 12,0 kg m^{-3} MO; 78,0 g m^{-3} P; 0,74 g kg^{-1} H + Al; 0,05 g kg^{-1} K; 1,05g kg^{-1} Ca; 0,23 g kg^{-1} Mg; 1,13 g kg^{-1} SB; 1,84 g kg^{-1} CTC e V de 60,7%. Para os micronutrientes, os níveis encontrados foram: 0,68 g m^{-3} B; 19,1 g m^{-3} Cu; 20 g m^{-3} Fe; 23,7 g m^{-3} Mn e 3,5 g m^{-3} Zn.

Amostragem e Preparação das Amostras

Para assegurar uma comparação equitativa, os frutos selecionados apresentavam a mesma idade fisiológica. A cor da casca mostrou estádio verde maduro (duro e com cor de pele verde). Após a colheita, os frutos foram selecionados e imersos por 10 minutos em água, ou água clorada com 100 mg L^{-1} de hipoclorito de sódio, ou imersos em água ozonizada, utilizando um ozonizador (Degradatox/OZ Engenharia, Indústria de Equipamentos Geradores de Ozônio-LTDA, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil)

com a capacidade de gerar, aproximadamente, 1 g de ozônio L^{-1} s^{-1}, em um tanque de 180L. Os frutos foram divididos em dois grupos, diferenciados pelo tempo de imersão: 10 ou 20 minutos.

Os tratamentos consistiram de lavagem dos frutos em água, com e sem ozônio, e os grupos foram os seguintes: AC - frutos de sistema convencional lavados com água; AO - frutos de sistema orgânico lavados com água; CC - frutos de sistema convencional imersos em água clorada; CO - frutos de sistema orgânico imersos em água clorada; $Oz_{10}C$ - frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada durante 10 minutos; $Oz_{10}O$ - frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada durante 10 minutos; $Oz_{20}C$ - frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada durante 20 minutos e $Oz_{20}O$ - frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada durante 20 minutos.

Posteriormente, os frutos foram armazenados em câmara de refrigeração a temperatura de 14 ± 3°C e com 90 ± 2% UR. As avaliações foram realizadas em 5 períodos. A primeira ocorreu no dia da colheita, imediatamente após os tratamentos de sanitização, e os outros quando os frutos foram removidos da câmara de refrigeração aos 7 e 15 dias após a colheita. Para simular o tempo de comercialização, aos 7 dias, os frutos foram removidas do armazenamento a frio e mantidos à temperatura ambiente, analisados em 4 (7 + 4) e 8 (7 + 8) dias à temperatura ambiente (27 ± 2 °C e 65 ± 5% de UR). As análises físico-químicas foram realizadas no momento em que os frutos foram removidos do armazenamento a frio (em material fresco), ao passo que a caracterização bioquímica ocorreu em polpa de fruta fresca que tinha sido homogeneizada com nitrogênio líquido e armazenadas a -80 °C.

Caracterização Física e Química

Firmeza (F), pH, Acidez titulável (ATA) e Sólidos Solúveis Totais (SS)

A firmeza (N) dos frutos foi determinada usando penetrômetro manual digital (Turoni, Itália) (modelo 53205) na região equatorial de dois frutos por repetição. O pH foi determindado por leituras diretas de extratos da polpa homogeneizados, utilizando um medidor de pH (modelo HI 4221, Hanna Instrumentos Brasil). A acidez titulável das polpas dos frutos foi determinada com 0,1 N NaOH utilizando fenolftaleína como indicador e os resultados foram expressos como g de ácido málico equivalente por kg de massa fresca (g AME kg^{-1} MF). Os sólidos solúveis das polpas de manga foram determinadas usando refratômetro digital (ATAGO RX5000, Atago Co. Ltd., Itabashi-Ku, Tóquio, Japão) e os resultados expressos em ºBrix.

Caracterização Bioquímica

Ácido ascórbico (AA)

Os níveis de ácido ascórbico nas amostras de polpa de manga foram medidos por titulação, usando 2 g de polpa de manga, em 10 ml de 1% ácido oxálico. Esta solução foi titulada com 2,6-dichlorofenol-indofenol e os resultados foram expressos em ácido ascórbico equivalente em mg por kg de matéria fresca (g AAE kg^{-1} MF).

Polifenóis totais (PT)

Os polifenóis totais foram analisados utilizando o método espectrofotométrico, com Folin-Ciocalteu utilizado como reagente (Singleton & Rossi, 1995), e os resultados

foram expressos em ácido gálico equivalente em g por kg de massa seca (g AGE kg^{-1} MS). A exposição à luz foi evitada durante o processo de extração.

β-caroteno

β-caroteno foi determinado por cromatografia liquida de alta performance (HPLC-Waters) com um detector de fotodíodo. O extrato foi preparado a partir de 100 mg de manga fresca e adicionado 5 ml de metanol. A exposição à luz foi evitada durante o processo de extração. Os tubos foram agitados durante 30 segundos e depois centrifugada a 3500 x g, a 4 °C durante 10 minutos. O sobrenadante foi removido e 10 mL de THF (tetrahidrofuran) (Sigma-Aldrich) foram adicionados e em seguida agitados em vórtice durante 30 segundos, centrifugados (3500 xg e 4 ° C) durante 10 minutos e o sobrenadante removido. Este procedimento foi repetido mais três vezes até que o volume do recipiente de vidro (25 mL) foi alcançado. Após secagem na linha de nitrogênio, 200 mL de etanol foram adicionados, seguido por agitação durante mais 30s. Finalmente, 100 μg do extrato foram colocados no HPLC (UltiMate 3000TM UHPLC systems, Thermo Scientific) com uma coluna C30 (3 um, 150 x 4,6 mm, Wilmington, NC). Os carotenóides foram monitorados a 455 nm. As fases móveis do HPLC foram analisadas como relatado por Li et al. (2009). O tempo de corrida foi de 30 minutos, com um intervalo de 8 minutos entre as amostras e os resultados foram expressos em $\mu g\ ^{g-1}$. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

Determinação da capacidade antioxidante total

A determinação da atividade antioxidante foi realizada por DPPH, método indicado por Brand-Williams et al. (1995) e os resultados foram convertidos em porcentagem de

atividade antioxidante *(% DPPH reduzido = Abs branco – Abs amostra*) , expressos em μg de Trolox equivalente por kg de massa fresca (μg TE kg^{-1} MF).

Também a atividade antioxidante foi determinada utilizando o FRAP (Capacidade de redução do ferro no plasma) de acordo com o método descrito por Benzie e Strain (1996) e os resultados expressos em millimoles $FeSO_4$ por kg de massa seca (mM $FeSO_4$ kg^{-1} MS).

Análise microbiológica

As análises microbiológicas foram conduzidas em dois frutos a partir de cada grupo de tratamento após a colheita, após 7 dias de refrigeração e em 7 + 4 (simulando o tempo de comercialização). Os frutos foram pulverizados em nitrogênio líquido e uma alíquota de 25g foi ressuspensa em 225 mL de uma solução salina estéril de peptona (0,1%). A suspensão dos frutos foi diluída em um tampão de fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,0, previamente esterilizado a 121 °C, 1 atm, durante 20 minutos e inoculadas em meio de cultura para a verificação da presença de fungos e bactérias. Todos os testes foram realizados em triplicado como descrito por Manafi (2000) e Apha (2001).

Para a detecção de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. alíquotas de extrato dos frutos (100 μl) foram inoculados em placas de Petri contendo, *Staphylococcus* agar 110 (Himedia) e *Salmonella Shigella* Agar M108 (Himedia).

A detecção de *Salmonella* e *S. aureus* por estimativas de contagem direta e os resultados expressos como unidades formadoras de colônia por grama (UFC g^{-1}).

Para a detecção de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes, foi utilizada a técnica do método do número mais provável (NMP). O teste foi realizado por distribuição presuntiva, em triplicata, na qual se extraíram alíquotas (100 μl) em tubos

Durham invertido, contendo solução de lauril sulfato de sódio (LST), que foram incubados a 35 °C durante 48 h. Os tubos com evolução de gás e turvação foram considerados positivos para a presença de coliformes totais. Em seguida, alíquotas destas culturas positivas (100 µl) foram semeadas invertidas. Todos os resultados destas leituras foram expressos como o número mais provável de bactérias por grama de material analisado (NMP g^{-1}).

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento foi inteiramente casualizado com esquema fatorial 5 x 8 (dias de avaliação x tratamentos), com 3 repetições e duas amostras (frutos) por repetição. Todas as análises foram realizadas em triplicata. O teste de Scott-Knott, a uma probabilidade de 5%, foi utilizado para comparar as médias.

Resultados e Discussão

Análises microbiológicas

Após a colheita e após as sanitizações, não foram encontradas *Salmonella*, coliformes termotolerantes ou *S. aureus* (Tabela 1). No entanto, a água de torneira não eliminou os coliformes fecais nos frutos produzidos em sistema convencional. Aos 7 dias e 7 + 4, estes microorganismos foram observados em mangas convencionais e orgânicas.

A água ozonizada e clorada foram eficiente em eliminar os microrganismos analisados. Outros estudos confirmaram a eficiência do uso de ozônio na sanitização (Karaca e Velioglu, 2007), como relatado em brócolis (Lima et al., 2014), e mamão (Yeoh et al., 2014), entre outras espécies de vegetais.

Como o cloro não é usado em produtos orgânicos, devido à possibilidade de formação de sub-produtos, a água ozonizada foi um bom sanitizante para mangas 'Palmer'. Outro fator importante na utilização de água ozonizada é que esta poderia provavelmente ser reutilizada. De acordo com Ölmez & Akbas (2009), o ozônio não deixa resíduos, contribuindo assim para evitar o desperdício de água.

Caracterização Físico-química

Houve um aumento do pH com o tempo de armazenamento e estes valores aumentaram quando a fruta foi transferida para a temperatura ambiente, na simulação do período de comercialização (7 + 4 e 7 + 8 dias) (Tabela 2), especialmente para as mangas orgânicas. Independentemente do sistema de cultivo, o pH da manga não foi influenciada por cloro ou ozônio. Os frutos orgânicos tratados com água ozonizada, durante 10 minutos, após 7 dias mostraram níveis mais elevados de acidez titulável (AT) (27,70 g AME kg^{-1} MF) e houve uma redução com os dias de armazenagem (Tabela 2). Notou-se uma tendência de diminuição da acidez com armazenamento, devido ao processo respiratório (Ali et al., 2014). Este efeito pode ser atribuído à utilização de ácidos orgânicos como fonte de energia de reserva das células. Mangas orgânicas mostraram níveis mais elevados de AT em comparação com os frutos de sistema convencional depois do sétimo dia de armazena

Após sete dias de armazenamento refrigerado, as mangas cultivadas em sistema convencional apresentaram maior firmeza, independentemente sanitização utilizada (Tabela 2). Após esse período, a firmeza apresentou uma diminuição. Na última etapa da simulação de comercialização (7 + 8), as mangas orgânicas apresentaram valores mais baixos, em comparação com os do sistema convencional. Na

maioria dos tratamentos, os frutos que foram armazenados durante 15 dias em câmara fria apresentaram um grau de firmeza semelhante aos encontrados nos frutos armazenados em refrigeração e aqueles mantidos à temperatura ambiente durante a simulação de comercialização. Assim, verifica – se que o ozônio é um sanitizante que não afeta essa característica de qualidade, mesmo que seja um agente oxidante. Outros estudos têm mostrado que o uso de produtos sanitizantes como o ozônio pode resultar em aumento da firmeza, ou não induzir alterações (Rodoni et al, 2010;. Aguayo et al., 2006). No entanto, mangas orgânicas tratada com cloro ou apenas lavadas com água apresentaram maior perda de firmeza no período de comercialização (7 + 4 dias e 7 + 8 dias).

Os sólidos solúveis (SS) aumentaram com o amadurecimento das mangas, independente do sistema de cultivo (Tabela 2). A água ozonizada não causou quaisquer alterações no conteúdo SS, embora mangas orgânicas mantidos em armazenamento refrigerado e tratadas com água ozonizada apresentarem valores mais elevados, independentemente do tempo de imersão (10 ou 20 minutos). A água ozonizada também aumentou os SS em outros frutos, como mamão (Ali et al., 2014.).

Por outro lado, quando as mangas foram deixadas à temperatura ambiente, para simular a comercialização, esta tendência desapareceu. Isto pode ser atribuído à ação da temperatura, induzindo aumento do metabolismo respiratório e promovendo a formação de sólidos solúveis. Estes resultados foram encontrados para ambas as mangas orgânicas e convencionais, mostrando que, neste estudo, os frutos não diferiram de acordo com o tipo de cultivo. Embora os teores de sólidos solúveis ultrapassassem os limites aceitáveis pela legislação brasileira, que estabelece os padrões de identidade e qualidade (PIQ) para a polpa de manga como 11 °Brix (Brasil, 2000), estes níveis podem variar dependendo de vários fatores, como cultivo, clima, solo ou irrigação.

Caracterização Bioquímica

Após a colheita, houve uma tendência para níveis mais elevados de ácido ascórbico (AA) em mangas orgânicas (Tabela 3). Este resultado tende a repetir ao fim do armazenamento de 7 dias em câmara de refrigeração. No entanto, após 15 dias de armazenamento refrigerado, houve uma evidente tendência para níveis mais elevados de AA em mangas convencionais, em contraste com o observado em 7 dias. Alguns estudos mostram que os vegetais produzidos organicamente tendem a conter altos níveis de AA (Lima &Vianello, 2011). É bem documentado que os níveis de nitrogênio afetam o conteúdo de AA. Algumas culturas vegetais que crescem com baixo suprimento de nitrogênio, como ocorre geralmente na agricultura orgânica, podem apresentar maior concentração AA (Lee & Kader, 2000), mas isso não foi observado em nossos estudos. A água ozonizada utilizada não induziu alteração significativa no teor de AA.

Embora o ozônio seja um oxidante forte além de estarem relacionados com a formação de diferentes espécies reativas de oxigénio (ROS) dentro da célula, provavelmente, os tratamentos usados neste estudo não provocaram graves lesões devido ao estresse oxidativo, mostrando que, possivelmente, na manga 'Palmer' não ocorreu sintoma de toxicidade como descrito em pimentão (Alwi & Ali, 2015).

Durante o período de simulação de comercialização (7 + 4 e 7 + 8 dias), os frutos submetidos ao tratamento com água ozonizada, durante 10 minutos, o AA mostrou uma diminuição em relação ao último dia de armazenagem na câmara refrigerada. Este efeito pode ser atribuído à senescência das frutas, as condições de armazenamento e ao efeito da água ozonizada. Na literatura, há relatos controversos sobre os níveis AA e da utilização pós-colheita de ozônio. Após exposição ao ozônio gasoso, morangos apresentaram diminuição dos níveis de AA em 12 dias após o

armazenamento (Allende et al., 2007). Além disso, em estudos com mamão, o tratamento com ozônio aumento dos níveis de AA (Ali et al., 2014) e este efeito foi atribuído a alterações na atividade da peroxidase ascorbato e ascorbato-oxidase.

O ozônio é conhecido pela sua propriedade oxidativa e quando aplicado, resultada na formação de ROS, tal como peróxido (H_2O_2), radicais hidroxilo ($OH^{-)}$ e o radical superóxido (O_2), o que pode causar danos às frutas e células vegetais. Os AA como compostos antioxidantes podem limpar e desintoxicar ROS formados, resultando na redução do teor de ácido ascórbico em frutas e hortaliças frescas tratadas com ozônio (Alothman et al., 2010). No entanto, nestes tempos estudados (7 + 4 e 7 + 8 dias), é mais provável que a redução de AA pode ser atribuída à célula senescência.

Os frutos não apresentaram alterações de conteúdo β-caroteno quando foram armazenados câmara fria (Tabela 3). O cloro ou a água ozonizada não alterou significativamente os níveis deste carotenoide, mostrando que a água ozonizada pode ser eficaz na manutenção do teor de β-caroteno. No 15º dia de armazenamento refrigerado, mangas convencionais apresentaram níveis de β-caroteno mais elevados, com exceção daqueles que tinham sido imersos em água ozonizada durante 10 minutos.

A concentração de β-caroteno geralmente aumenta com o amadurecimento. Após este processo, os níveis tendem a estagnar ou diminuir durante o armazenamento, dependendo da temperatura usada (Liu et al., 2009) ou da sanitização, como o ozônio (Ölmez & Akbas, 2009).

No presente trabalho, não houve variações durante o armazenamento, mas quando as mangas 'Palmer' foram transferidas para temperatura ambiente, os resultados foram interessantes. O nível mais elevado β-caroteno (323,34 μg g^{-1}) foi encontrada na polpa de frutos orgânicos armazenados durante 7 + 8 dias e tratados com água ozonizada, durante 20 minutos, embora estes frutos apresentassem senescência

avançada e eram inadequados para o consumo *in natura*, se o objetivo fosse obter β-caroteno para uso em fitoterápicos ou na indústria alimentar, as mangas 'Palmer' fora do ponto de consumo poderiam ser utilizadas como um subproduto.

Alguns estudos têm demonstrado que as frutas e vegetais orgânicos têm níveis mais elevados de compostos fenólicos (Lima e Vianello, 2011). No entanto, esta tendência não foi observada nas mangas 'Palmer' após a colheita (Tabela 3). Outro resultado interessante foi que a água ozonizada (oxidante) não promoveu um aumento no total de fenóis em mangas mantidas na câmara refrigerada, apesar do ozônio ser um oxidante forte que resulta na produção de ROS, induzindo o mecanismo antioxidante que inclui polifenóis, para a proteção de células.

Quando estes frutos foram transferidos para a temperatura ambiente, o tratamento com água ozonizada, durante 10 minutos, foi eficiente para a indução de um aumento do teor de fenóis, independentemente do tipo de cultivo. Algumas pesquisas afirmaram que a exposição ao ozônio aumenta o teor de fenóis totais (Alothman et al., 2010; Yeoh et al., 2014), devido a alterações nas atividades de enzimas, tais como fenilalanina amoniliase (PAL) e peroxidase (POD) (Chauhan et al., 2011).

Houve uma tendência das mangas cultivadas organicamente apresentarem níveis mais altos de atividade antioxidante quando medidas por DPPH após a colheita e submetidas a tratamentos de sanitização (Tabela 4). Após 7 dias de armazenamento em câmara fria, o possível efeito de sistemas de cultivo (orgânicos ou convencionais) não foi mais observado. Aos 7 + 8 dias, os frutos orgânicos tratados com água ozonizada mostraram valores mais elevados de atividade antioxidante. Neste tempo, as mangas apresentavam o teor de β-caroteno superior. No entanto, este carotenoide é hidrófobo e o método de DPPH (analisar apenas no sobrenadante) não poderia ser eficaz para detectar este composto.

Quando a atividade antioxidante foi analisada pelo método de FRAP (Tabela 4), os resultados foram semelhantes ao DPPH no dia da colheita. Em contraste, após 7 dias de armazenamento refrigerado as mangas 'Palmer' orgânicas apresentaram atividade antioxidante mais elevada do que as convencionais. Aos 15 dias essa diferença desaparece (orgânico e convencional). Os frutos sanitizados com água ozonizada (10 e 20 minutos) não mostraram nenhuma diminuição ou aumento na atividade antioxidante via DPPH ou FRAP. Em outros estudos, o ozônio induziu um aumento na atividade antioxidante, medida pelo DPPH ou FRAP, em frutas e vegetais (Alothman et al., 2010; Gonzalez-Aguilar et al.,2007; Yeoh et al., 2014).

Conclusões

Neste estudo com mangas convencionais e orgânicas, poucas variações foram encontradas em relação aos compostos com propriedades antioxidantes, que nos levaram a afirmar que as mangas orgânicas contêm teores mais elevados em comparação as convencionais em relação aos compostos bioativos. A água ozonizada pode ser utilizada como uma alternativa a sanitização ao cloro, sem causar danos à manga ‘Palmer’, não induzindo a diminuição de vários compostos analisados. Este produto não diminui os níveis de substâncias com potencial antioxidante e pode ser usado em alimentos orgânicos. O tratamento com água ozonizada foi eficaz na conservação dos frutos sem micro-organismos, impedindo a redução da qualidade, e evitando a geração de lixo orgânico. Neste estudo, também se observou que aos 7 + 8 dias as mangas que já não estão aptas para o consumo tiveram maior teor de β-caroteno. Essa evidência é importante para futuros estudos em frutos que são fontes de carotenoides.

Agradecimentos Gostaríamos de agradecer ao "Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico" (CNPq) (CNPq-141354/2012-7; 478372/2013-2; 306151/2012-0) e a "Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo" (FAPESP) (2013/05644-3) pelo suporte financeiro ao projeto.

Referências

Ali, A., Ong, M. K., & Forney, C. F. 2014. Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. *Food Chemistry, 142,* 19-26.

Allende, A., Marin, A., Buendia, B., Tomas-Barberan, F., & Gil, M. I. 2007. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O_3, superatmospheric O_2 and high CO_2) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology, 46*, 201–211.

Alothman, M., Kaur, B., Fazilah, A., Bhat, R., & Karim, A. A., 2010. Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science & Emerging Technology, 11,* 666–671.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry, 16th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

American Public Health Association (APHA). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington, DC.

Benzie, I., & Strain, J. 1996. The ferric reducing abitity of plasma (FRAP) as a mesure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry, 239*, 70-75.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology, 28,* 25-30.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2000. Padrões de identidade e qualidade para polpa de manga. Brasília, Distrito Federal. 1018p.

Chauhan, D.S., Deswal, D.P., Dahiya, D.P., & Punia, R.C. 2011. Change in storage enzymes activities in natural and accelerated aged seed of wheat (*Triticum aestivum*). *Indian Journal of Agricultural Sciences, 81,* 1037-1040.

Daş, E., Gürakan, G.C., & Bayındırlı, A. 2006. Effect of controlled atmosphere storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of *Salmonella enteritidis* on cherry tomatoes. *Food Microbiology, 23*, 430–438.

Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997. Manual de métodos de análises de solo, 2nd. Ed. Rio de Janeiro, Brasil. 212p.

Gonzalez-Aguilar, G.A., Zavaleta-Gatica, R., & Tiznado-Hernandez, M.E. 2007. Improving postharvest quality of mango 'Haden' by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology, 45,* 108–116.

Karaca, H., & Velioglu, Y.S. 2007. Ozone applications in fruit and vegetable processing. *Food Reviews International, 23*, 91–106.

Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology,20,* 207-220.

Li, L., Aldini, G., Carini, M., Chen, C.-Y. O., Chun, H.-K., Cho, S.-M., Park, K.-M., Correa, C. R., Russell, R. M., Blumberg, J., & Yeum, K.-J. 2009. Characterization, extraction efficiency, stability and antioxidant activity of phytonutrients in *Angelica keiskei. Food Chemistry, 115*, 227–232.

Lima, G.P.P., & Vianello, F. 2011. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. *International Journal of Food Science and Technology, 46*, 1-13.

Lima, G. P. P., Machado, T. M., Oliveira, L.M. de, Borges, L. da S., Pedrosa, V. de A., Vanzani, P., & Vianello, F. 2014. Ozonated water and chlorine effects on the antioxidant properties of organic and conventional broccoli during postharvest. *Scientia Agricola, 71,* 151-156.

Liu, L. H., Zabaras, D., Bennett, L. E., Aguas, P., & Woonton, B.W. 2009. Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage. *Food Chemistry, 115*, 495–500.

Manafi, M. 2000. New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. *International Journal of Food Microbiology, 60,* 205-218.

Ölmez, H., & Akbas, M. Y. 2009. Optimization of ozone treatment of fresh-cut green leaf lettuce. *Journal of Food Engineering, 90,* 487 - 494.

Ravindra, M. R., & Goswami, T. K. 2007. Post-harvest handling and storage of mangos – an overview. *Journal of Food Science and Technology, 44*, 449–458.

Rodoni, L., Casadel, N., Concell´on, A., Chaves, A., & Vicente, A. R. 2010. Effect of short-term ozone treatments on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit quality and cell wall degradation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry, 58*, 594–599.

Singleton, V. L., & Rossi Jr, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybidic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture, 16,* 144-158.

Yeoh, W.K., Ali, A., & Forney, C.F. 2014. Effects of ozone on major antioxidants and microbial populations of fresh-cut papaya. *Postharvest Biology and Technology, 89,* 56–58

Tabela 1 Os efeitos de diferentes sanitizantes (cloro e água ozonizada) nas populações de Salmonella, coliformes e Staphylococcus aureus após a colheita de mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais

Dias após a colheita	Tratamentos	*Salmonella* (UFC g^{-1})	Coliformes Toatais (NMP g^{-1})	Coliformes Termotolerantes(NMP g^{-1})	*Staphylococcus aureus* (UFC g^{-1})
Após a colheita	**AC***	-	240	< 3	< 100
	AO	-	3	< 3	< 100
	CC	25	< 3	< 3	< 100
	CO	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{10}C$	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{10}O$	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{20}C$	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{20}O$	25	< 3	< 3	< 100
7	**AC**	25	23	< 3	< 100
	AO	25	43	< 3	< 100
	CC	25	< 3	< 3	< 100
	CO	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{10}C$	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{10}O$	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{20}C$	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{20}O$	25	< 3	< 3	< 100
7 + 4	**AC**	25	23	< 3	< 100
	AO	25	9,1	< 3	< 100
	CC	25	< 3	< 3	< 100
	CO	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{10}C$	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{10}O$	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{20}C$	25	< 3	< 3	< 100
	$Oz_{20}O$	25	< 3	< 3	< 100

*AC: frutos convencionais lavados com água; AO: frutos orgânicos lavados com água; CC: frutos convencionais imersos em água clorada; CO: frutos orgânicos imersos em água clorada; $Oz_{10}C$: frutos convencionais imersos em água ozonizada por 10 minutos; $OZ_{10}O$: frutos orgânicos imersos em água

ozonizada por 10 minutos; $Oz_{20}C$: frutos convencionais imersos em água ozonizada por 20 minutos; $Oz_{20}O$: frutos orgânicos e imersos em água ozonizada por 20 minutos.

Tabela 2 Características físico-químicas de mangas 'Palmer' orgânica e convencional submetidas à sanitizações

	Tratamentos	Após a colheita	Armazenamento refrigerado		Comercialização simulada	
			7 dias após a colheita	15 dias após a colheita	7+4 dias após a colheita	7+8 dias após a colheita
pH	**AC**	3,49±0,06^{Eb*}	3,64±0,11^{Da}	4,78±0,09^{Aa}	4,19±0,12^{Cc}	4,58±0,05^{Bc}
	AO	3,42±0,03^{Db}	3,38±0,05^{Db}	4,24±0,04^{Cc}	4,59±0,03^{Ba}	4,77±0,15^{Ab}
	CC	3,42±0,01^{Db}	3,45±0,05^{Db}	4,30±0,09^{Bc}	3,97±0,10^{Cd}	4,75±0,05^{Ab}
	CO	3,27±0,08^{Ec}	3,40±0,01^{Db}	4,12±0,03^{Cd}	4,70±0,07^{Ba}	4,97±0,03^{Aa}
	$Oz_{10}C$	3,67±0,11^{Ca}	3,60±0,15^{Ca}	4,51±0,05^{Ab}	4,05±0,03^{Bd}	4,61±0,06^{Ac}
	$Oz_{10}O$	3,33±0,03^{Dc}	3,44±0,04^{Db}	4,37±0,07^{Cc}	4,66±0,07^{Ba}	4,88±0,04^{Aa}
	$Oz_{20}C$	3,62±0,06^{Da}	3,42±0,03^{Eb}	4,18±0,09^{Cd}	4,42±0,22^{Bb}	4,71±0,04^{Ab}
	$Oz_{20}O$	3,42±0,04^{Db}	3,48±0,03^{Db}	4,30±0,06^{Cc}	4,50±0,06^{Bb}	4,99±0,04^{Aa}
F(N)	**AC**	160,13±2,15^{Ab}	165,67±16,78^{Ab}	30,38±3,24^{Cc}	68,31±5,79^{Ba}	21,57±1,38^{Cb}
	AO	165,27±5,48^{Ab}	150,58±4,17^{Bd}	17,73±1,62^{Cd}	23,84±3,23^{Cd}	19,54±4,06^{Cb}
	CC	136,44±3,09^{Ac}	144,22±4,46 ^{Ad}	46,97±1,81^{Ba}	50,95±3,15^{Bb}	23,03±4,59^{Cb}
	CO	138,85±10,14^{Ac}	135,23±9,44^{Ae}	31,65±5,89^{Bc}	19,25±6,14^{Cd}	11,24±3,58^{Cc}
	$Oz_{10}C$	155,63±1,40^{Bb}	188,96±4,47^{Aa}	24,08±3,69^{Cd}	29,22±2,99^{Cc}	31,02±4,52^{Ca}
	$Oz_{10}O$	181,56±4,62^{Aa}	131,09±2,13^{Be}	25,75±1,12^{Cd}	28,84±7,42^{Cc}	11,26±6,79^{Dc}
	$Oz_{20}C$	155,94±4,65^{Ab}	155,43±6,96^{Ac}	22,68±8,97^{Cd}	35,77±7,55^{Bc}	17,71±2,48^{Cb}
	$Oz_{20}O$	154,57±6,77^{Ab}	117,71±6,26^{Bf}	35,40±2,30^{Db}	51,98±2,47^{Cb}	8,83±2,82^{Ec}

SS (°Brix)	**AC**	6,77±0,32^{Da}	8,90±0,10^{Cd}	14,65±0,05^{Bb}	15,43±0,06^{Aa}	15,60±0,78^{Aa}
	AO	6,53±0,38^{Da}	10,70±0,46^{Cb}	15,37±0,15^{Ab}	12,40±0,50^{Bc}	15,03±0,81^{Ab}
	CC	6,63±0,51^{Da}	9,37±0,31^{Cc}	15,00±0,10^{Ab}	13,50±0,30^{Bb}	13,73±0,67^{Bc}
	CO	5,43±0,35^{Db}	10,90±0,35^{Cb}	16,40±0,40^{Aa}	15,30±0,20^{Ba}	15,85±0,45^{Aa}
	$Oz_{10}C$	6,5±0,26^{Da}	6,10±0,60^{Df}	14,07±0,76^{Cc}	15,30±0,10^{Ba}	16,13±0,59^{Aa}
	$Oz_{10}O$	6,33±0,23^{Da}	9,77±0,67^{Cc}	17,20±0,10^{Aa}	14,07±0,60^{Bb}	14,30±0,10^{Bc}
	$Oz_{20}C$	6,97±0,71^{Da}	8,,,10±0,,,46^{Ce}	14,97±0,29^{Ab}	15,35±0,25^{Aa}	14,25±0,25^{Bc}
	$Oz_{20}O$	6,63±0,55^{Ea}	11,83±0,57^{Da}	16,83±0,64^{Aa}	16,00±0,10^{Ba}	12,85±0,55^{Cd}
AT (g AME kg^{-1} MF)	**AC**	14,10±0,34^{Bd}	19,14±0,33^{Ac}	6,00±0,21^{De}	8,70±0,78^{Cd}	5,35±0,52^{Dc}
	AO	16,35±0,15^{Bc}	7,35±0,56^{Ce}	19,23±0,11^{Aa}	5,72±0,20^{De}	6,20±0,49^{Dc}
	CC	18,30±2,34^{Bb}	21,70±1,50^{Ab}	9,62±0,43^{Cc}	8,22±0,48^{Dd}	5,60±0,32^{Ec}
	CO	20,30±0,19^{Aa}	19,20±0,90^{Ac}	8,54±1,13^{Cd}	10,23±0,59^{Bc}	6,14±0,50^{Dc}
	$Oz_{10}C$	15,20±0,49^{Bd}	17,23±0,58^{Ad}	12,44±0,02^{Cb}	10,15±0,54^{Dc}	6,00±0,23^{Ec}
	$Oz_{10}O$	6,54±0,29^{De}	27,72±0,96^{Aa}	7,70±0,11^{Cd}	15,80±1,09^{Bb}	8,20±0,89^{Cb}
	$Oz_{20}C$	17,70±0,56^{Ab}	18,90±0,99^{Ac}	10,20±1,01^{Bc}	10,05±0,48^{Bc}	5,80±0,08^{Cc}
	$Oz_{20}O$	6,00±0,29^{De}	5,97±1,14^{Df}	10,30±0,51^{Cc}	24,22±0,78^{Aa}	17,20±0,08^{Ba}

* Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (linhas) e maiúsculas (colunas) não diferem estatisticamente de acordo com o teste Scott-Knott (*P ≥ 0.05). AC - frutos de sistema convencional lavados com água; AO - frutos de sistema orgânico lavados com água; CC - frutos de sistema convencional imersos em água clorada; CO - frutos de sistema orgânico imersos em água clorada; $Oz_{10}C$ - frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada por 10 minutos; $Oz_{10}O$ - frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada por 10 minutos; $Oz_{20}C$ - frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada por 20 minutos e $Oz_{20}O$ - frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada por 20 minutos. F: Firmeza de polpa; SS: Sólidos solúveis; AT: Acidez titulável.

Tabela 3 Efeito da sanitização com cloro e água ozonizada nos compostos bioativos durante a pós-colheita de mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais

	Tratamentos	Após a colheita	Armazenamento refrigerado		Comercialização simulada	
			7 dias após a colheita	15 dias após a colheita	7+4 dias após a colheita	7+8 dias após a colheita
AA (g kg^{-1} MF)	**AC**	0,49±0,01^{Cb*}	0,56±0,03^{Ba}	0,72±0,04^{Aa}	0,51±0,03^{Cd}	0,52±0,03^{Ca}
	AO	0,52±0,03^{Ca}	0,62±0,02^{Aa}	0,65±0,05^{Ab}	0,57±0,05^{Bc}	0,46±0,04^{Db}
	CC	0,47±0,03^{Db}	0,54±0,03^{Cb}	0,63±0,01^{Ab}	0,53±0,01^{Cd}	0,57±0,01^{Da}
	CO	0,55±0,03^{Ca}	0,58±0,03^{Ba}	0,59±0,03^{Bc}	0,67±0,06^{Aa}	0,52±0,02^{Ca}
	$Oz_{10}C$	0,54±0,03^{Ba}	0,48±0,03^{Cc}	0,70±0,01^{Aa}	0,52±0,02^{Bd}	0,47±0,03^{Cb}
	$Oz_{10}O$	0,53±0,02^{Ba}	0,60±0,02^{Aa}	0,56±0,01^{Bc}	0,56±0,01^{Bc}	0,54±0,01^{Ba}
	$Oz_{20}C$	0,47±0,03^{Cb}	0,49±0,03^{Cc}	0,71±0,02^{Aa}	0,61±0,05^{Bb}	0,48±0,01^{Cb}
	$Oz_{20}O$	0,49±0,01^{Bb}	0,60±0,01^{Bb}	0,62±0,02^{Ab}	0,53±0,01^{Bd}	0,54±0,02^{Ba}
β-caroteno (µg g^{-1})	**AC**	22,85±6,59^{Cb}	81,79±24,49^{Ba}	100,44±3,76^{Ba}	33,79±5,11^{Cb}	180,62±14,86^{Ac}
	AO	47,58±4,28^{Aa}	52,57±1,42^{Ab}	71,05±8,98^{Ab}	54,34±8,85^{Ab}	70,69±4,06^{Ae}
	CC	20,57±0,96^{Cb}	46,83±0,55^{Cb}	122,10±9,96^{Ba}	43,47±0,76^{Cb}	161,17±36,99^{Ac}
	CO	14,98±0,19^{Cb}	25,90±1,46^{Cb}	38,92±2,17^{Cc}	79,94±3,81^{Ba}	282,51±50,08^{Ab}
	$Oz_{10}C$	17,96±0,22^{Bb}	36,52±10,23^{Bb}	44,64±5,73^{Bc}	46,80±4,39^{Bb}	118,41±2,57^{Ad}
	$Oz_{10}O$	42,10±4,18^{Ba}	24,31±2,81^{Bb}	42,59±5,44^{Bc}	47,89±17,77^{Bb}	157,53±48,80^{Ac}
	$Oz_{20}C$	54,21±2,22^{Ba}	45,23±3,63^{Bb}	57,54±15,17^{Bb}	47,29±2,83^{Bb}	123,31±14,64^{Ad}

	$Oz_{20}O$	37,60±3,24^{Ba}	45,29±3,37^{Bb}	30,61±4,10^{Bc}	37,50±7,71^{Bb}	323,34±23,70^{Aa}
PT (g AGE kg^{-1} MS)	**AC**	10,30±0,03^{Ab}	9,20±0,13^{Ba}	8,00±0,05^{Cb}	10,60±0,26^{Ab}	9,43±0,34^{Bb}
	AO	8,80±0,02^{Ac}	5,50±0,21^{Ed}	7,20±0,19^{Cc}	8,50±0,21^{Be}	6,20±0,03^{Df}
	CC	8,40±0,03^{Bd}	8,20±0,12^{Bb}	7,50±0,14^{Cc}	9,00±0,03^{Ad}	9,30±0,04^{Ab}
	CO	8,80±0,01^{Bc}	4,80±0,13^{Ef}	6,30±0,04^{Dd}	10,7±0,10^{Ab}	8,20±0,02^{Cc}
	$Oz_{10}C$	8,30±0,08^{Bd}	8,00±0,16^{Bb}	8,11±0,05^{Bb}	11,00±0,25^{Aa}	7,70±0,02^{Cd}
	$Oz_{10}O$	7,40±0,35^{Ce}	5,20±0,06^{Ee}	8,30±0,14^{Ba}	8,80±0,03^{Ad}	6,60±0,39^{De}
	$Oz_{20}C$	11,50±0,47^{Aa}	7,90±0,07^{Db}	7,20±0,15^{Ec}	8,80±0,03^{Cd}	10,30±0,15^{Ba}
	$Oz_{20}O$	6,40±0,14^{Cf}	5,90±0,08^{Dc}	8,50±0,17^{Ba}	9,34±0,17^{Ac}	6,30±0,12^{Cf}

* Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (linhas) e maiúsculas (colunas) não diferem estatisticamente de acordo com o teste Scott-Knott (*P ≥ 0.05). AC - frutos de sistema convencional lavados com água; AO - frutos de sistema orgânico lavados com água; CC - frutos de sistema convencional imersos em água clorada; CO - frutos de sistema orgânico imersos em água clorada; $Oz_{10}C$ - frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada por 10 minutos; $Oz_{10}O$ - frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada por 10 minutos; $Oz_{20}C$ - frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada por 20 minutos e $Oz_{20}O$ - frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada por 20 minutos. AA: Ácido ascórbico e PT: Polifenóis totais.

Tabela 4 Efeito da sanitização com cloro e água ozonizada na atividade antioxidante de mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais

	Tratamentos	Após a colheita	Armazenamento refrigerado		Comercialização simulada	
			7 dias após a colheita	15 dias após a colheita	7+4 dias após a colheita	7+8 dias após a colheita
DPPH (µg TE kg^{-1} MF)	**AC**	7,20±0,50^{Bb}	8,40±0,45^{Ab}	8,40±0,15^{Aa}	5,10±0,78^{Cd}	7,00±0,43^{Ba}
	AO	8,70±0,60^{Aa}	8,00±0,76^{Bb}	9,10±0,22^{Aa}	5,70±0,39^{Cc}	1,10±0,45^{Dc}
	CC	5,00±0,05^{Cc}	7,10±0,26^{Bc}	8,80±0,66^{Aa}	6,40±0,28^{Bb}	6,80±0,31^{Ba}
	CO	9,00±0,51^{Aa}	8,60±0,38^{Ab}	9,00±0,31^{Aa}	8,00±0,74^{Ba}	1,60±0,38^{Cc}
	$Oz_{10}C$	5,20±0,40^{Cc}	6,80±0,29^{Bc}	8,34±0,44^{Aa}	4,50±0,66^{Cd}	4,90±0,26^{Cb}
	$Oz_{10}O$	8,50±0,84^{Ba}	9,40±0,19^{Aa}	9,33±0,02^{Aa}	6,31±0,25^{Cb}	6,72±0,83^{Ca}
	$Oz_{20}C$	4,80±0,68^{Cc}	8,90±0,10^{Aa}	6,64±0,41^{Bb}	7,23±0,35^{Ba}	7,20±0,63^{Ba}
	$Oz_{20}O$	8,80±0,30^{Aa}	9,10±0,19^{Aa}	9,10±0,22^{Aa}	6,62±0,97^{Cb}	7,64±0,56^{Ba}
FRAP (mM $FeSO_4$ kg^{-1} MS)	**AC**	20,37±3,03^{Ec}	27,19±2,23 ^{Dc}	60,29±1,56^{Ba}	83,96±0,63^{Ab}	48,90±3,38^{Ce}
	AO	53,43±3,86^{Ca}	48,32±7,33 ^{Cb}	49,42±0,24^{Cb}	92,76±7,43^{Aa}	67,46±6,93^{Bc}
	CC	25,82±4,07^{Ec}	31,94±2,60 ^{Dc}	39,02±0,30^{Cc}	89,18±4,03^{Aa}	77,38±3,68^{Bb}
	CO	24,24±3,09^{Dc}	49,60±2,78 ^{Cb}	51,63±3,89^{Cb}	74,03±1,40^{Ac}	59,04±2,45^{Bd}
	$Oz_{10}C$	21,70±0,65^{Ec}	28,11±2,34^{Dc}	61,11±0,32^{Ba}	79,75±1,37^{Ab}	53,90±0,75^{Cd}
	$Oz_{10}O$	38,93±2,83^{Db}	51,29±6,95^{Cb}	50,69±3,89^{Cb}	80,66±8,96^{Ab}	58,13±2,62^{Bd}
	$Oz_{20}C$	21,40±3,40^{Dc}	28,73±4,31^{Cc}	50,37±3,04^{Bb}	60,72±3,76^{Ad}	46,28±2,94^{Be}
	$Oz_{20}O$	48,45±1,27^{Ca}	60,47±4,71^{Ba}	51,21±2,65^{Cb}	57,85±3,70^{Bd}	84,83±1,54^{Aa}

* Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (linhas) e maiúsculas (colunas) não diferem estatisticamente de acordo com o teste Scott-Knott (*P ≥ 0.05). AC - frutos de sistema convencional lavados com água; AO - frutos de sistema orgânico lavados com água; CC - frutos de sistema convencional imersos em água clorada; CO - frutos de sistema orgânico imersos em água clorada; $Oz_{10}C$ - frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada por 10 minutos; $Oz_{10}O$ - frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada por 10 minutos; $Oz_{20}C$ - frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada por 20 minutos e $Oz_{20}O$ - frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada por 20 minutos

Capitulo II

AÇÃO DE SANITIZANTES NO CONTEUDO DE AMINAS BIOATIVAS EM MANGAS

AÇÃO DE SANITIZANTES NO CONTEÚDO DE AMINAS BIOATIVAS EM MANGAS

Resumo

Este trabalho objetivou verificar a influencia de sanitizantes (ozônio e hipoclorito de sódio) no conteúdo de poliaminas (putrescina, espermina e espermidina) durante o armazenamento refrigerado e na simulação de comercialização de mangas (*Mangifera indica* L.) cultivadas em sistema orgânico e convencional. As mangas orgânicas da cultivar Palmer foram adquiridas em propriedade no município de Borborema-SP e as convencionais, da mesma cultivar foram doadas pela Ogata *Citrus* localizada no município de Taquaritinga-SP. As colheitas foram realizadas nas primeiras horas da manhã e os produtos transportados imediatamente ao laboratório de Bioquímica, onde foram submetidos a quatro tratamentos de sanitização: imersão em água de abastecimento público; em água clorada com 100 mg L^{-1} de hipoclorito de sódio por 10 minutos e ozonização por 10 e 20 minutos. A quantificação das aminas bioativas foi realizada no dia da colheita e aos sete dias de armazenamento refrigerado seguido por 4 e 8 dias de armazenamento ambiente a fim de simular o período de comercialização.De forma geral, ao longo do armazenamento, as características avaliadas não foram influenciadas pelos sanitizantes, sugerindo que o cloro pode ser substituído pelo ozônio sem comprometimento das características de qualidade.

Palavras-chave: cultivo orgânico e convencional; ozônio; cloro

ABSTRACT

This study aimed to verify sanitizers influence (ozone and sodium hypochlorite) in polyamines content (putrescine, spermidine and spermine) during refrigerated storage and marketing simulation on organic and conventional mangoes. Mangoes "Palmer" organically and conventional cultivated, acquired from Borborema-SP (21°37'11''S, 49°04'25''W and 429 m) and Taquaritinga-SP (21°24'21''S, 48°30'18''W and 565 m), respectively, both from Brazil, were used. Fruits were subjected to following treatments: control samples (fruits grown in organic and conventional system, washed with public water supply); chlorine sanitized samples (fruits grown in organic and conventional system, submerged in chlorinated water, 100 mg L^{-1} sodium hypochlorite per 10 minutes); ozonate samples (fruits grown in organic and conventional system, submerged in ozonate water, 1 ppm, per 10 and 20 minutes). The quantification of bioactive amines was performed on harvest day and seven days of cold storage followed by four and eight days of storage at room temperature to simulate marketing. In general, during storage, the characteristics were not influenced by sanitizers, suggesting that chlorine can be replaced by ozone without compromising quality characteristics.

Key words: organic and conventional crops; ozone; chlorine

1. INTRODUÇÃO

Diversos autores descrevem a sanitização como a etapa mais importante para manutenção da qualidade de frutos após a colheita, pois diminui a taxa de micro-organismos patogênicos e deteriorantes, com consequente aumento no período de armazenamento e comercialização (Brackett, 1992; Nascimento et al., 2003; Reis et al., 2008).

O cloro, sob a forma de hipoclorito de sódio, tem sido o composto mais utilizado para garantir a qualidade de água e alimentos, além de aumentar a segurança e a vida útil de produtos vegetais. No entanto, estudos mostram que o hipoclorito de sódio pode levar à formação de subprodutos indesejáveis, como compostos organoclorados, trihalometanos (THMs), que são tóxicos e carcinogênicos (Akbas e Ozdemir, 2008). A preocupação com as reações que levam a formação destes subprodutos durante a utilização do cloro na pós-colheita de frutas e vegetais tem estimulado o interesse internacional no desenvolvimento e eficácia de novas técnicas de sanitização, incluindo ozônio aquoso e gasoso (Allende et al., 2006).

Água ozonizada pode ser utilizada para a desinfecção de superfícies de equipamentos e embalagem, no saneamento de água em sistemas de lavagem e durante a sanitização pós-colheita de frutas e vegetais para controlar as infecções por micro-organismos (Smilanick et al., 2002; Mahapatra et al., 2005). Neste caso, O_3 aquoso é utilizado como uma alternativa ao cloro para desinfetar a água utilizada para resfriar ou lavar frutas e vegetais, melhorando a qualidade microbiológica por meio do controle de agentes patogénicos sobre a superfície destes produtos (Parish et al., 2003). Além disso, devido à sua rápida decomposição ao oxigênio e ao fato de que ele não deixa resíduos nos produtos tratados, a sua aplicação no processamento de alimentos é permitidos pela certificação orgânica (Selma et al., 2008).

A produção convencional de mangas tem sido importante no Brasil devido à competitividade nos preços e na qualidade, sendo exportada para os mercados Europeu e Norte-Americano (Leite et al., 1998).

A produção orgânica de manga também é viável e foi introduzida no Brasil, em pomares certificados pela Associação de Certificação Instituto Biodinâmico (IBD), por pequenos e médios produtores, visando mercado Europeu e, ao contrário da mangicultura convencional, no sistema orgânico, não é aplicado nenhum produto

químico sintético, minimizado riscos ao ambiente e aos consumidores (Pinto et al., 2008). Além disso, vegetais cultivados organicamente possuem elevada concentração de compostos bioativos, devido ao seu envolvimento em processos de proteção de plantas (Lima et al 2008.).

Uma importante classe de compostos que é frequentemente encontrada em alimentos são as poliaminas (PAs) e, embora a ingestão de PAs seja conhecida há anos como um fator importante que afeta a saúde humana, dados sobre o conteúdo PAs em alimentos são limitados (Kalac e Krausova, 2005).

O objetivo deste trabalho foi verificar a influencia de sanitizantes no conteúdo de poliaminas durante a comercialização simulada de mangas cultivadas em sistema orgânico e convencional.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Mangas "Palmer" cultivadas em sistemas orgânico e convencional, adquiridas em Borborema – SP (latitude 21°37'11''S e longitude 49°04'25''W) e Taquaritinga – SP (latitude 21°37'11''S e longitude 49°04'25''O e altitude 429 metros), respectivamente, foram utilizadas.

2.2 Sanitizações

- Amostras controle: frutos cultivados em sistema orgânico e convencional submetidos à lavagem com água corrente proveniente do abastecimento público;
- Amostras sanitizadas com cloro: frutos cultivados em sistema orgânico e convencional imersos em água clorada contendo 100 mg L^{-1} de hipoclorito de sódio por 10 minutos;
- Amostras sanitizadas com ozônio: frutos cultivados em sistema orgânico e convencional imersos em água ozonizada por 10 minutos e 20 minutos.

Na sequência os frutos foram drenados em papel toalha e armazenados em câmara com controle de temperatura (15 ± 1 °C) e umidade relativa (85 ± 5%) por 7 dias. Após o armazenamento refrigerado as mangas foram deixadas em temperatura ambiente por quatro e oito dias para simular a comercialização desses frutos.

2.3 Poliaminas por cromatografia de camada delgada (TLC)

As poliaminas foram determinadas por cromatografia em camada delgada (TLC) (Lima et al, 2006). PAs livres foram analisados de acordo com método proposto por Flores e Galston (1982), com modificações. Os teores de PAs foram expressos em $\mu g\ g^{-1}$ de peso fresco.

2.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi em esquema fatorial 8 X 3 (sanitizações X simulação de comercialização), com três repetições, representadas por 2 frutos cada.

Os resultados foram avaliados pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$) através do software R (R Development Core Team, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os conteúdos de PAs (putrescina, espermidina e espermina) são apresentados na Tabela 1.

Os níveis de putrescina encontrados nos frutos cultivados em sistema orgânico foram maiores que no convencional. O aumento desses níveis pode ser uma resposta a diferentes tipos de estresse (Flores e Galston, 1982), pois plantas cultivadas em sistema orgânico não recebem tratamentos com pesticidas, o que pode facilitar o ataque de pragas e/ou doenças (Legaz et al., 1998).

Lima et al. (2008) ao relatarem níveis de PAs em um grande número de vegetais adquiridos de agricultores orgânicos e convencionais, observaram que o sistema orgânico induz o aumento dos níveis de putrescina na maioria dos vegetais analisados.

Frutos orgânicos ozonizados apresentaram redução nos conteúdos desta diamia. Essa redução também foi observada no armazenamento, notavelmente nos frutos refrigerados por sete dias e submetida à simulação de comercialização por quatro dias. Tais fatos sugerem uma aceleração do amadurecimento com consequente redução da vida útil dos frutos. Geralmente, níveis de PAs são reduzidos durante o amadurecimento seguido de maior produção de etileno, como foi observado em abacates (Winer e Apelbaum, 1986) e peras (Toumadje e Richardson, 1988).

PAs e etileno apresentam uma relação antagônica durante o amadurecimento de frutos (Pandey et al., 2000), baixas concentrações PAs estão correlacionadas com níveis elevados de etileno (Kusano et al., 2007), o qual está relacionado com a senescência do fruto.

Tabela 1. Putrescina, Espermidina e Espermina (µg g $^{-1}$) em mangas orgânicas e convencionais tratadas com diferentes sanitizantes e submetidas à comercialização simulada.

Tratamentos		Putrescina (µg g $^{-1}$)		
		Armazenamento (dias)		
		0	7+4	7+8
Orgânico	H_2O	2,24±0,14 aA	0,58± 0,19 aC	1,53±0,27 aB
	Cloro	1,48±0,24 bA	0,51±0,11 aB	1,53±0,13 aA
	Ozônio 10	0,72±0,06 cA	0,38±0,00 aB	0,71±0,05 bA
	Ozônio 20	0,91±0,07 cB	0,32±0,06 BC	1,55±0,11 aA
Convencional	H_2O	0,52±0,04 dA	0,24±0,02 bB	0,52±0,00 bA
	Cloro	0,58±0,06 dA	0,24±0,00 bB	0,57±0,03 bA
	Ozônio 10	0,65±0,02 cA	0,39±0,07 aA	0,45±0,02 bA
	Ozônio 20	0,29±0,09 eB	0,12±0,02 bB	0,51±0,03 bA
	CV%	19,33		
Tratamentos		Espermidina (µg g $^{-1}$)		
		Armazenamento (dias)		
		0	7+4	7+8
Orgânico	H_2O	2,31±0,40 bA	2,37±0,16 bA	1,08±0,06 dB
	Cloro	2,23±0,14 bA	2,59±0,12 bA	1,08±0,34 dB
	Ozônio 10	2,56±0,09 bA	2,43±0,09 bA	2,67±0,27 bA
	Ozônio 20	2,52±0,13 bB	2,60±0,01 bB	3,07±0,24 aA
Convencional	H_2O	2,99±0,02 aA	2,49±0,07 bB	2,07±0,06 cC
	Cloro	2,27±0,17 bA	1,74±0,09 cB	2,39±0,12 cA
	Ozônio 10	1,49±0,13 cB	1,38±0,15 cB	3,34±0,26 aA
	Ozônio 20	2,34±0,42 bB	4,76±0,09 aA	2,30±0,16 cB
	CV%	9,33		
Tratamentos		Espermina (µg g $^{-1}$)		
		Armazenamento (dias)		
		0	7+4	7+8
Orgânico	H_2O	1,50±0,34 dB	2,24±0,06 eA	1,05±0,09 cB
	Cloro	2,71±0,53 cB	4,66±0,48 cA	1,05±0,20 cC
	Ozônio 10	2,50±0,21 cC	4,64±0,44 cA	3,49±0,43 aB

	Ozônio 20	2,99±0,19 cB	5,69±0,49 bA	3,34±0,27 aB
Convencional	**H_2O**	3,51±0,38 bB	6,36±0,26 aA	1,72±0,02 bC
	Cloro	3,46±0,29 bA	2,47±0,39 eB	1,86±0,09 bC
	Ozônio 10	6,39±0,24 aA	1,84±0,22 eC	3,37±0,04 aB
	Ozônio 20	6,05±0,34 aA	3,04±0,62 dB	3,00±0,38 aB
	CV%	10,59		

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (coluna) e as mesmas letras minúsculas (linha) são estatisticamente significativas para o teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Os conteúdos de espermidina foram maiores em frutos cultivados em sistema convencional e lavados apenas com água. O cloro e o ozônio tiveram grande efeito nesta triamina, reduzindo drasticamente seus níveis quando comparadas ao controle, o que, isoladamente, seria um fato positivo, visto que em frutos maduros (com etileno em seu pico) os níveis de todas as poliamainas atinjam seu valor mínimo (Harpaz-Saad et al., 2012).

As maiores concentrações de espermina encontradas nos frutos cultivados convencionalmente podem indicar maior juvenilidade destes. Embora, os frutos tivessem a mesma idade fisiológica, durante todo o experimento, aqueles cultivados em sistema convencional visivelmente estavam mais sadios.

Neste trabalho, os valores de espermidina e espermina foram maiores que putrescina na fase inicial de desenvolvimento dos frutos, em ambos os sistemas de cultivo corroborando com dados encontrados por Malik e Singh (2004). Em melões, Lester (2000) observaram teores de poliaminas maiores após 35 dias de amadurecimento sugerindo que mudanças na biossíntese de poliaminas e níveis endógenos destas PAs diferem com relação à variedade de frutos bem como o estádio de desenvolvimento e divisão celular (Malik et al., 2005).

Estudos realizados com “Murcot” (Nathan et al., 1984) demonstraram aumento nas concentrações de poliaminas durante amadurecimento sugerindo que a variação das PAs não é somente entre espécies, mas também entre as diferentes fases de amadurecimento. Variações nos níveis endógenos de poliaminas podem ser observadas durante mudanças no amadurecimento embora estas mudanças também se devam ao tipo da cultivar (Bouchereau et al., 1999; Zuzunaga et al., 2001).

4. CONCLUSÃO

De forma geral, ao longo do armazenamento, as características avaliadas não foram influenciadas pelos sanitizantes, sugerindo que o cloro pode ser substituído pelo ozônio sem comprometimento das características de qualidade.

5. REFERÊNCIAS

Akbas, M. Y.; Ozdemir, M. (2008) Application of gaseous ozone to control populations of Escherichia coli, Bacillus cereus and Bacillus cereus spores in dried figs. Food microbiology, 25(2):386-39

Allende, A.; Marin, A.; Buendia, B.; Tomas-Barberan, F.; Gil, M. I. (2007). Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O3, superatmospheric O2 and high CO2) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. Postharvest Biol. Technol. 46:201–211.

Bouchereau, A.; Aziz, A.; Larher, F.; Martin-Tanguy, J. (1999). Polyamines and environmental challenges: recent development. Plant Science, 140(2):103-125.

Brackett, R. E. (1992) Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and desinfection. Journal Food Protection, Connecticut, 55:808-814.

Flores, H. E.; Galston. A. W. (1982) Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid cromatography. Plant Physiology, 69:701-706.

Harpaz-Saad, S.; Yoon, G. M.; Mattoo, A. K.; Kieber, J. J. (2012). The formation of ACC and competition between polyamines and ethylene for SAM. Annu Plant Rev, 44:53-81.

Kalac, P.; Krausová, P. A. (2005) A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. Food Chemistry, 90(1):219-230.

Kusano, T.; Yamaguchi, K.; Berberich, T.; Takahashi, Y. (2007). Advances in polyamine research in 2007. Journal of plant research, 120(3):345-350.

Leite, L. A. S.; Pessoa, P. F. A.; Albuquerque, J. A.; Silva, P. C. G. O (1998) Agronegócio da manga no Nordeste. In: Castro, A. M. G. et al. Cadeias produtivas e sistemas naturais – prospecção tecnológica. Brasília: Embrapa-SPI, 389-439.

Legaz, M.E.; DE ARMAS, R; PINON, D.; VICENTE, C. Relationships between phenolic-conjugated polyamines and sensitivity of sugarcane to smut (*Ustilago scitaminea*). Journal of Experimental Botany, Oxford, v.49, p.1723-1728.1998.

Lester, G.E. Polyamines and their cellular anti-senescence properties in honey dew muskmelon fruit. Plant Sci., n. 160, p. 105-112, 2000.

Lima, G. P. P.; Rocha, S. A. D.; Takaki, M.; Ramos, P. R. R. (2006). Polyamines contents in some foods from Brazilian population basic diet. Ciência Rural, 36(4):1294-1298.

Lima, G.P.P.; Rocha, S; Takaki, M; Ramos, P. R. R.; Ono, E. O. (2008) Comparison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and organic methods. Int J Food Sci Techn, 43:1838–1843.

Mahapatra, A.K., Muthukumarappan, K., Julson, J.L.(2005) Aplications of ozone, bactereiocins and irradiation in food processing: a review. Critical Reviews in food science and nutrition, 45: 447-461.

Malik, A. U.; Singh, Z. (2004). Endogenous free polyamines of mangos in relation to development and ripening. Journal of the American Society for Horticultural Science, 129(3):280-286.

Malik, A.U., Singh, Z., Khan, A.S. (2005) Role of polyamines in fruit development, ripening, chilling injury, storage and quality of mango and other fruits: A review. Proceedings: International Conference on Mango and Date Palm: Culture and Export, p. 182-187.

Nathan, R.; Altaman, A.; Monselise, S.P. (1984) Changes in activity of polyamine biosynthetic enzymes and polyamines contents in developing fruit tissues of 'Murcott' madarin. Scientia Hort, 22:359-364.

Nascimento, M. S.; Silva, N.; Catanozi, M. P. L. M. (2003) Emprego de Sanitizantes na Desinfecção de Vegetais. Revista Higiene Alimentar, 17, 42-46.

Pandey, S.; Ranade, S. A.; Nagar, P. K.; Kumar, N. (2000). Role of polyamines and ethylene as modulators of plant senescence. Journal of biosciences, 25(3):291-299.

Parish, M. E.; Beuchat, L. R.; Suslow, T. V.; Harris, L. J.; Garrett, E. H.; Farber,J. N.; Busta, F. F. (2003) Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. Compr. Rev. Food Sci. Food Safety, 2(Suppl.):161–173.

Pinto, P. A. C.; Choudhury, M. M.; Lins, J. A.; Homma, S.; PINTO, A. C. C.; Silva, C. P.; Oliveira, R. S. (2008) Qualidade pós-colheita de frutos de mangueira (Mangifera indica L.) var. 'Tommy Atkins' sob sistema orgânico no submédio São Francisco (Brasil). Recursos Rurais, 1(4):5-12.

R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. http://www.R-project.org/.

Reis, K. C.; Siqueira, H. H.; Alves, A. P.; Silva, J. D.; Lima, L. C. O. (2008) Efeito de diferentes sanificantes sobre a qualidade de morango cv. Oso grande. Ciência e Agrotecnologia, 32(1):196-202.

Selma, M. V.; Ibanez, A. M.; Cantwell, M.; Suslow, T. (2008). Reduction by gaseous ozone of Salmonella and microbial flora associated with fresh-cut cantaloupe. Food Microbiol., 25:558–565.

Smilanick, J. L., Margosan, D. M., and Mlikota Gabler, F. 2002B. Impact of ozonated water on the quality and shelf-life of fresh citrus fruit, stone fruit, and table grapes. zone Sci. Eng. 24:343-356.

Toumadje, A.; Richardson, D. G. (1988) Endogenous polyamines concentrations during development, storage and ripening of pear fruits. Phytochem., 27:335-338.

Winer, L., Apelbaum, A. (1986) Involvement of polyamines in the development and ripening of avocado fruits, J. Plant Physiol., 126:223-233.

Zuzunaga, M.; Serrano, M.; Martínez-Romero, D.; Valero, D.; Riquelme, F. (2001). Comparative study of two plum (Prunus salicina Lindl.) cultivars during growth and ripening. Food science and technology international, 7(2):123-130

Capitulo III

EFEITO DE SANITIZANTES NOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DA POLPA E CASCA DE MANGA

EFEITO DE SANITIZANTES NOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DA POLPA E CASCA DE MANGA

Resumo

O efeito da água sanitizada como método de sanitização em manga foi estudado nos conteúdos de polifenóis totais, flavonoides, carotenoides e vitamina C da polpa e casca. Manga 'Palmer' após a colheita e submetida aos tratamentos de sanitizações por imersão em água, água clorada (10 minutos em hipoclorito de sódio 100 $mg \cdot L^{-1}$) ou água ozonizada por 10 a 20 minutos. Após as sanitizações, as mangas foram armazenadas a 15˚C ± 1˚C e 85% ± 5% UR por 7 dias, seguidos de 4 dias armazenadas em temperatura ambiente (simulando o período de comercialização), totalizando 11 dias após a colheita. As polpas de mangas sanitizadas com água ozonizada por 20 minutos apresentaram maiores valores de acidez titulável, carboidratos totais solúveis, vitamina C, carotenoides e flavonoides. Esses dados sugerem que o uso de água ozonizada pode contribuir para a indução do aumento de compostos antioxidantes.

Palavras-chave
Água ozonizada, Vitamina C, Polifenóis, Carotenoides

Abstract

Effects of ozonated water as sanitizer method on mango were studied on total phenolics, flavonoids, carotenoids and vitamin C of pulp or peel. Mango cultivar "Palmer" was harvested and subjected to sanitization treatments by immersion in water, chlorinated water (10 minutes sodium hypochlorite 100 $mg \cdot L^{-1}$) or ozonated water for 10 and 20 minutes. After the sanitization process, the mangoes were stored at 15˚C ± 1˚C and 85% ± 5% RH for seven days, followed by 4 days of storage at room temperature (simulating the trading period), totaling 11 days after harvested. Mangoes pulp sanitized with ozonated water for 20 minutes showed the highest values of TA, total soluble carbohydrates, vitamin C, carotenoids and flavonoid content. These data suggest that the use of ozonated water may contribute to inducing increase antioxidants compounds.

Keywords
Ozonated Water, Vitamin C, Polyphenol, Carotenoid

1. Introdução

A manga (*Mangifera indica* L.), família Anacardiaceae, é uma das frutas tropicais mais populares, seguido por banana, abacaxi, mamão e abacate. Estudos sobre suas propriedades antioxidantes foram realizados. Esta planta tem partes, como a casca do caule, folhas e frutos de polpa, que são conhecidas para várias aplicações biomédicas, incluindo a eliminação de radicais livres [1] [2], anti-inflamatória [3] e anticancerígena [4].
Espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas durante os processos metabólicos normais podem facilmente iniciar a peroxidação lipídica da membrana [5].

Para diminuir a ação de ROS, as plantas produzem substâncias que eliminam radicais livres, expressadas como antioxidantes, que são compostos que inibem ou retardam a oxidação de outras moléculas, inibem o início ou a propagação das reações de oxidação em cadeia. Antioxidantes naturais são uma vasta gama de compostos, incluindo compostos fenólicos, compostos de nitrogênio e carotenoides [6].

Entre os compostos com ação antioxidante, os compostos fenólicos possuem uma série de propriedades farmacológicas que os tornam ativas em sistemas biológicos.

Vários estudos têm sido realizados avaliando seus efeitos antioxidantes, visando à prevenção de doenças degenerativas crônicas, como doenças cardiovasculares, aterosclerose e artrite reumatoide, entre outros [7].

Além disso, os compostos fenólicos que existem principalmente na forma de ésteres ou formas glicosiladas em plantas proporcionar benefícios para a saúde através de vários mecanismos incluindo: radicais livres de limpeza, proteção e regeneração de outros antioxidantes dietéticos (por exemplo, vitamina E) e íons metais pró-oxidantes. No entanto, os tipos e níveis de compostos fenólicos variam drasticamente entre os produtos hortícolas [8].

Os vegetais são geralmente higienizados para o consumo e este passo é importante e fundamental para a qualidade microbiológica. Nesta fase, é importante verificar que o higienizador também deve ser eficaz e toxicologicamente seguro. Geralmente, os compostos à base de cloro são utilizados, os quais podem apresentar algumas limitações devido à formação de alguns subprodutos, tais como resíduos de organoclorados, trihalometanos (THM) e ácidos haloacéticos, que são mutagênicos, tóxicos e cancerígenos. Eles podem permanecer nos alimentos, água, água de lavagem e superfícies de contato com alimentos [9].

De acordo com estudos, alguns compostos clorados são inativados com presença de matéria orgânica que limita a sua utilização [10] - [12]. Acredita-se que as perdas de atividade do hipoclorito a sua eficácia após a reação com compostos nitrogenados em alimentos resultam em compostos orgânicos halogênios [13] [14].

Uma alternativa para o uso de cloro é o ozônio. É considerado um sanitizante alternativo devido às suas características de instabilidade e nenhuma formação de subproduto que pode causar problemas [15] [16] de saúde aos humanos e ao ambiente. Em comparação com o cloro e outros agentes sanitizantes semelhantes, o ozônio precisa de concentrações mais baixas e mais curtas contato com o alimento para uma ação sanitizante eficaz [17].

Food and Drug Administration dos Estados Unidos da América (EUA), aprovou recentemente o ozônio como sanitizante, aplicado em formas aquosas ou gasosas e combinado com boas práticas de fabricação. O Departamento de Agricultura dos EUA também aprovou este desinfetante em 1997 [16].

O objetivo deste estudo foi determinar se o uso de água ozonizada poderia induzir aumentos de compostos antioxidantes, contribuindo para a obtenção de manga 'Palmer' com qualidade nutricional superior.

2. Material e Métodos

Mango "Palmer" foram fornecidas por Ogata Citrus, localizada em Taquaritinga, São Paulo, Brasil (latitude 21˚37'11 "S, longitude 49˚04'25" W e altitude 429 metros). Os frutos foram colhidos no início da manhã, selecionados, padronizados em tamanho, maturidade e submetido a tratamentos de sanitização por imersão em água, água clorada (hipoclorito de sódio por 10 minutos, 100 mg · g^{-1}) ou de água ozonizada, durante 10 e 20 minutos, obtida a partir de um ozonizador (Degradatox / OZ Engenharia, Indústria de Equipamentos Geradores de Ozônio- LTDA, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil). Após o processo de desinfecção, as mangas foram armazenadas a 15 ° C ± 1C e 85% ± 5% de UP, durante sete dias, seguido por 4 dias de armazenagem à temperatura ambiente (simulando o período de comercialização), num total de 11 dias após a colheita. Os frutos foram separados em polpa e casca e análises foram realizadas em material fresco. Partes do fruto (polpa e casca) foram pulverizadas em nitrogênio líquido e armazenados a -80 ° C, e partes secas em estufa a 60 ° C ± 2 ° C e moído num moinho de facas. Cada tratamento de sanitização continha 2 frutos por repetição, com quatro repetições, totalizando 32 frutos. Foram analisados nas polpas de manga os sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), pH, vitamina C, proteínas, lipídios totais e carboidratos solúveis. Os carotenoides foram analisados na casca e polpa de manga, assim como o total de compostos polifenólicos e flavonoides.

2.1. Conteúdo de Sólidos Solúveis (SS)

O conteúdo de sólidos solúveis foi obtido por refratômetro digital (ATAGO) e expressos em °Brix [18].

2.2. Acidez titulável (AT)

A acidez titulável foi determinada de acordo com [19] e os resultados expressos em equivalente de acido málico por 100 g^{-1}.

2.3. pH

Para a análise do pH (modelo de HI 4221, Hanna Instruments Brasil), as amostras (10 g) foram pesados e homogeneizados com 10 ml de água destilada. O valor de pH foi determinado por potenciometria, utilizando uma solução tampão de pH (4,01 e 7,01). A calibração do instrumento foi efetuada diariamente, de acordo com [19].

2.4. Vitamina C

O método de titulação foi utilizado para a determinação de vitamina C, utilizando 2,6-diclorofenol-indofenol como indicador [19]. Os resultados foram expressos em mg vit. C por 100 g^{-1}.

2.5. Teor de proteína total

O teor de proteínas foi realizado segundo o método de Kjeldahl, os resultados foram expressos como percentagem de matéria seca e percentagem de nitrogênio calculado com a multiplicação pelo fator (6,25) [19].

2.6. Carboidratos solúveis totais

Os carboidratos solúveis totais foram realizados sobre a matéria seca por extração quente e os valores foram comparados com curva de glicose padrão e expressos em percentagem [20].

2.7. Teor de lipídeos

Os lipídeos foram analisados em relação à matéria seca [21] e expressos em porcentagem.

2.8. Polifenóis totais

A análise dos polifenóis totais foi realizada conforme o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu [22]. O material da amostra foi seco em estufa de circulação constante, pesado e colocado em tubos de centrífuga contendo 50% de acetona em água. As amostras foram incubadas em banho ultrassônico durante 20 minutos e centrifugadas a 6000 × g (Hettich Zentrifugen, Mikro220R) durante 10 minutos. Os sobrenadantes foram re-extraídos e combinados. Folin-Ciocalteu foi adicionado, após 3 minutos a 25 °C foi adicionada uma solução saturada de Na_2CO_3, para a reação, a solução foi incubada durante 1 h. A absorbância foi medida a 760 nm. O conteúdo de polifenóis foi expresso em equivalente de ácido gálico por 100 g^{-1}.

2.9. Flavonoides totais

A análise do conteúdo de flavonoides foi conduzida de acordo com o método espectrofotométrico adaptado [23] [24]. Resumidamente, as amostras de material fresco foram pulverizadas em nitrogênio líquido, pesadas e misturadas com 10% (w/v) de metanol acidificado. Subsequentemente, as amostras foram colocadas em banho ultrassônico durante 30 minutos, e uma solução de cloreto de alumínio a 5% foi adicionado. As amostras foram centrifugadas durante 20 minutos a 10.000 x g. Finalmente, as amostras foram filtradas, e a absorbância foi medida a 425 nm. Os resultados foram expressos em mg equivalente de mangiferina 100 g^{-1}.

2.10. Carotenoides totais

A extração de carotenoides foi realizada em peso fresco de acordo com o método [25]. Baseado na capacidade do coeficiente de absorção molar dos pigmentos: clorofila, carotenoides e antocianinas em acetona tamponada. Os valores da absorbância foram convertidos em mg de carotenoides totais por 100 g^{-1} de massa fresca (MF) usando as fórmulas seguintes:

Antocianina (μmol·mL^{-1}) = (0,08173A537) − (0,00697A647) − (0,002228A663)
Clorofila a (μmol·mL−1) = 0,01373(A663) – 0,000897(A537) – 0,003046(A647).
Clorofila b (μmol·mL−1) = 0,02405(A647) – 0,004305(A537) – 0,005507(A663).
Carotenoides (μmol·mL^{-1}) = {A470 − [17,1.(Cla + Clb)] – 9,479.Anthocyanin}/119,26.

2.11. Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, para a análise da polpa as medias foram comparadas teste de Tukey a 5% de probabilidade. O fatorial 2 × 4 (polpa e pele x sanitizações) foram aplicados para a análise polpa e da casca. O software utilizado foi o Statistica, versão 7.0 [26].

3. Resultados e Discussão

3.1. Polpa

Os parâmetros de qualidade, SS e pH, não foram afetados pelos sanitizantes aplicados (Tabela 1). Os valores de pH e SS foram próximos aos relatados por alguns autores [27] [28]. Também não foram observados efeitos dos sanitizantes nos teores de proteínas e lipídeos (Tabela 1). O teor de proteína do presente estudo foi menor do que a detectada por [29], enquanto o teor de lipídeos encontrado é próximo ao descrito pelos mesmos autores. No entanto, os níveis de lipídeos no presente trabalho foram superiores ao relatado por [30], com quatro variedades de manga. Neste estudo, as mangas, com 11 dias após a colheita e sanitizadas com água ozonizada ou cloro apresentaram níveis de proteína e lipídeos próprios para o consumo.

Quanto ao conteúdo total de carboidratos solúveis foram maiores em mangas sanitizadas com água ozonizada. Tal fato provavelmente significa que o agente de sanitização poderia ter promovido um estresse, aumentando a taxa de respiração, induzindo a solubilização de polissacarídeos de reserva, aumentando assim os níveis de carboidratos solúveis, estimulando o sabor [31]. Resultados foram consistentes com o aumento de açúcares solúveis (frutose e teor de glicose) relatados em morango [32] e tomate [33], em resposta ao ozônio atmosférico de baixo nível.

Mangas sanitizadas com água ozonizada durante 20 minutos aumentaram seu teor de vitamina C. O ozônio é um antioxidante e vitamina C tem uma ação contra o estresse oxidativo [34]. Neste estudo, a maior teor de vitamina C foi notado nos frutos que possuíam o maior tempo de exposição ao ozônio (Tabela 1), o que pode ser uma resposta das células vegetais para qualquer dano causado pela maior exposição ao oxidante (ozônio). Alterações no teor de vitamina C em mangas foram descritos na literatura (entre 5 - 194 mg · 100 g^{-1}) [28] [29] [35].

O aumento no teor de vitamina C após o uso de ozônio pode ser referido ao efeito inibidor do ozônio sobre as enzimas tais como ascorbato peroxidase e ascorbato-oxidase e (responsável pela degradação do ácido ascórbico). Por outro lado, a alta concentração de ozônio pode ser prejudicial, reduzindo o ácido ascórbico através da promoção da

atividade da ascorbato-oxidase [36]. Nutricionalmente, o aumento dos níveis de vitamina C promovido pela água ozonizada pode ser interessante para o consumidor, pois estes podem obter um fruto com mais alto teor de vitamina C, além dos benefícios de um fruto com a ausência de qualquer agroquímico, tal como um trihalometano, produzido pela reação do cloro [12].

3.2. Polpa e casca

Os carotenoides totais da polpa e casca (Tabela 2) foram significativamente influenciados pelo uso de água ozonizada. Um aumento do conteúdo de carotenoides, principalmente na polpa, foi observado. Em tomates (*Lycopersicum esculentum*) expostos durante 24 horas com ar enriquecido de ozônio também foram encontradas aumento no conteúdo de carotenoides [37]. Estudos com kiwis revelaram que o teor de carotenoides totais se elevou após a exposição ao ozônio gasoso (0,3 ppm) [38].

No entanto, há evidências de diminuição níveis de carotenoides que podem ocorrem em cenouras frescas após a exposição ao ozônio [39].

Conteúdo de polifenóis totais em polpa de manga 'Palmer' não foi modificado pelo uso de ozônio, mas pelo cloro que induziu um aumento. O cloro é um desinfetante potente com fortes propriedades oxidantes, geralmente eficazes, relativamente barato, e o agente mais utilizado pela indústria de alimentos para sanitizar produtos e equipamentos.

NaClO em água aumenta o pH e produz HClO, que é o desinfetante ativo, sendo mais eficaz a um intervalo de pH de 6,5-7,5 [40]. O efeito do cloro pode ter colaborado para promover um processo oxidativo, aumentando o teor de polifenóis, como uma forma de eliminação da formação de ROS, o que poderia danificar as células.

Neste estudo, o teor de flavonoides na polpa foi muito menor (14 e 24 mg de mangiferina 100 g^{-1}) que os detectados em três cultivares de manga diferentes (160 e 560 mg mangiferina 100 g^{-1}) [41]. Em contrapartida, a água ozonizada induziu o aumento do teor de flavonoides total na polpa (Tabela 2). Os polifenóis podem causar riscos à propagação de radicais livres, o que faz com que a peroxidação lipídica da célula seja através da transferência de um elétron equivalente aos radicais.

Apesar do papel que estas substâncias desempenham na manutenção da saúde, eles são negligenciados na maioria dos levantamentos de composição de alimentos [42]. Como o ozônio pode induzir estresse oxidativo em frutas frescas, que promove muitas respostas fisiológicas, incluindo a síntese de poliaminas, antioxidantes, etileno, compostos fenólicos (tais como os flavonoides) e outros metabolitos secundários [43], a sua utilização como um sanitizante pode ser propícia para aumentar o teor de flavonoides.

Resultados interessantes foram obtidos em casca de mangas, que apresentaram, independentemente do tratamento de sanitização maiores teores destes compostos, evidenciando o potencial como antioxidante. Portanto, a melhor utilização da casca de manga para a ingestão de alimentos pode ser uma excelente fonte de compostos fenólicos.

Tabela 1. Acidez titulável (AT), pH, sólidos solúveis (SS), carboidratos solúveis totais, proteína e lipídios na polpa madura e higienizado de manga 'Palmer'.

	Tratamentos				
	Água	**Cloro**	**Ozônio 10**	**Ozônio 20**	**CV (%)**
AT (mg eq acido malico 100 g^{-1})	0,88 bc	0,82 c	1,03 a	0,99 ab	6,15
pH	4,0 a	4,0 a	4,3 a	4,4 a	4,89
SS (Brix)	14,93 a	13,67 a	14,73 a	15,13 a	4,11
Carboidrato ($g \cdot 100g^{-1}$)	20,56 c	23,57 b	23,60 b	25,67 a	3,06
Proteína ($g \cdot 100g^{-1}$)	1,73 a	1,72 a	1,71 a	1,72 a	0,82
Lipídeos ($g \cdot 100g^{-1}$)	0,46 a	0,47 a	0,48 a	0,51 a	6,54
Vitamina C (mg Vit. C 100 g^{-1})	50,60 b	53,17 b	51,93 b	64,55 a	3,42

Médias seguidas pela mesma letra (colunas) não apresentaram diferença estatística significativa de acordo com o teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Níveis de carotenoides, polifenóis e flavonoides em polpa e casca de mangas 'Palmer' maduras e sanitizadas.

		Tratamentos				
		Água	**Cloro**	**Ozônio 10**	**Ozônio 20**	**CV (%)**
Carotenoides ($mg \cdot 100g^{-1}$)	polpa	394,90 Ac	351,83 Ac	751,32 Aa	564,84 Ab	6,15
	casca	257,64 Bb	283,89 Bab	337,48 Ba	295,18 Bab	
Polifenóis (g eq. ácido galico 100 g^{-1})	polpa	0,86 Bb	1,07 Ba	0,89 Bb	0,93 Bab	3,70
	casca	2,94 Aa	1,84 Ac	2,43 Ab	2,31 Ab	
Flavonoides (mg eq. mangiferina 100 g^{-1})	polpa	14,16 Bb	15,08 Bb	25,82 Ba	24,50 Ba	1,87
	casca	484,75 Ac	652,14 Aa	495,76 Ab	594,53 Ab	

Médias seguidas pela mesma letra (colunas) não apresentaram diferença estatística significativa de acordo com o teste Tukey ($p \leq 0,05$).

4. Conclusão

O uso de água ozonizada na manga 'Palmer' pode ser rentável para aumentar as substâncias com potencial antioxidante, bem como o eventual consumo da casca pode ser interessante para aumentar a ingestão de polifenóis.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer FAPESP (Fundação de Pesquisa de São Paulo) (2013 / 05644-3), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) (478372 / 2013-2 e 141354 / 2012-7) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) (2441 / 09-8 e 478375 / 2010-7).

Referências

[1] Ajila, C.M., Bhat, S.G. and Rao, U.J.S.P. (2007) Valuable Components of Raw and Ripe Peels from Two Indian Mango
Varieties. *Food Chemistry*, **102**, 1006-1011. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.036

[2] Ribeiro, S.M.R., Queiroz, J.H., Queiroz, M.E.L.R., Campos, F.M. and Sant'Ana, H.M.P. (2007) Antioxidant in Mango
(Mangifera indica L.) Pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, **62**, 13-17. http://dx.doi.org/10.1007/s11130-006-0035-3

[3] Hernandez, P., Rodriguez, P.C., Delgado, R. and Walczak, H. (2007) Protective Effect of *Mangifera indica* L. Polyphenols
on Human T Lymphocytes against Activation Induced Cell Death. *Pharmacological Research*, **55**, 167-173.
http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2006.11.004

[4] Percival, S.S., Talcott, S.T., Chin, S.T., Mallak, A.C., Lounds-Singleton, A. and Pettit-Moore, J. (2006) Neoplastic
Transformation of BALB/3T3 Cells and Cell Cycle of HL-60 Cells are Inhibited by Mango (*Mangifera indica* L.) Juice and Mango Juice Extracts. *The Journal of Nutrition*, **136**, 1300-1304. http://dx.doi.org/10.1021/jf903161g

[5] Bergman, M., Varshavsky, L., Gottlieb, H.E. and Grossman, S. (2001) The Antioxidant Activity of Aqueous Spinach
Extract: Chemical Identification of Active Fractions. *Phytochemistry*, **5**, 143-152.
http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00137-6

[6] Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B.D. (1998) Antioxidant activity and Total Phenolics in Selected Fruits,
Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 4113-4117.
http://dx.doi.org/10.1021/jf9801973

[7] Lee, S.E., Hwang, H.J., Ha, J.S., Jeong, H.S. and Kim, J.H. (2003) Screening of Medicinal Plant Extracts for Antioxidant
Activity. *Life Sciences*, **73**, 167-179. http://dx.doi.org/10.1016/S0024-3205(03)00259-5

[8] Rommel, A. and Wrolstad, R.E. (1993) Influence of Acid and Base Hydrolysis on the Phenolic Composition of Red
Raspberry Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **41**, 1237-1241. http://dx.doi.org/10.1021/jf00032a014

[9] Nascimento, M.S, Silva, N. and Catanozi, M.P.L.M. (2003) Emprego de Sanitizantes na Desinfecção de Vegetais.
Revista Higiene Alimentar, **17**, 42-46.

[10] Minear, R.A and Amy, G.L. (1995) Disinfection by-Produtcs in Water Treatment: The Chemistry of Their Formation
and Control. Boca Raton, CRC Press.

[11] Richardson, S.D., Thruston, A., Caughran, T., Collette, T., Patterson, K. and Lykins, B. (1998) Chemical By-Products
of Chlorine and Alternative Disinfectants. *Food Technology*, **52**, 58-61.
[12] Rodgers, S. L., Cash, J. N., Siddiq, M. and Ryser, E.T. (2004) A Comparison of Different Chemical Sanitizers for Inactivating
Escherichia coli O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in Solution and on Apples, Lettuce, Strawberries, and
Cantaloupe. *Journal of Food Protection*, **67**, 721-731. http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.006
[13] Aieta, E.M., Roberts, P.V. and Hernandez, M. (1984) Determination of Chlorine Dioxide, Chlorine, Chlorite, and
Chlorate in Water. *Journal of the American Water Works Association*, **76**, 64-70.
[14] Beuchat, L.R. (1998) Surface Decontamination of Fruits and Vegetables Eaten Raw: A Review.
http://dx.doi.org/10.1094/PHP-2003-0121-01-RV
http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/surface_decon.pdf
[15] Khadre, M.A. and Yousef, A.E. (2001) Sporicidal Action of Ozone and Hydrogen Peroxide: A Comparative Study. *International*
Journal of Food Microbiology, **71**, 31-138. http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00561-X
[16] Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K. and Seydim, A.C. (2004) Use of Ozone in the Food Industry. *LWT—Food Science*
and Technology, **37**, 453-460. http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2003.10.014
[17] Kim, C.K., Gentile, D.M. and Sproul, O.J. (1980) Mechanism of Ozone Inactivation of Bacteriophage F2. *Applied and*
Environmental Microbiology, **39**, 210-218.
[18] Tressler, D.J. and Joslyn, M.A. (1961) Fruits and Vegetable Juice Processing. AVI, Westport.
[19] AOAC (1995) Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
[20] Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. (1956) Colorimetric Method for Determination of
Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, **28**, 350-356. http://dx.doi.org/10.1021/ac60111a017
[21] Blight, E.G. and Dyer, W.J. (1959) A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification Use in Determining
Vitamin E-Lipid Ratios. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, **37**, 911-917.
http://dx.doi.org/10.1139/o59-099
[22] Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. (1999) Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates
and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. In: Packer, L., Ed., *Oxidants and Antioxidants*, *Part A*,
Methods in Enzymology, **299**, Academic Press, New York, 152-178. http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1
[23] Santos, M.D. and Blatt, C.T.T. (1998) Teor de Flavonóides e Fenóis Totais em Folhas de *Pyrostegia Venusta* Miers. de
Mata e de Cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*, **21**, 135-140. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84041998000200004

[24] Awad, A.M., Jager, A.D. and Westing, L.M.V. (2000) Flavonoid and Chlorogenic Acid Levels in Apple Fruit: Characterization
of Variation. *Scientia Horticulturae*, **83**, 249-263. http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4238(99)00124-7
[25] Sims, D.A. and Gamon, J.A. (2002) Relationships Between Leaf Pigment Content and Spectral Reflectance across a
Wide Range of Species, Leaf Structures and Developmental Stages. *Remote Sensing of Environment*, **81**, 337-354.
http://dx.doi.org/10.1016/S0034-4257(02)00010-X
[26] Stat Soft Inc. (2004) Statistica (Data Analysis Software System) Version 7.0. http://www.statsoft.com
[27] Rathore, H.A., Masud, T., Sammi, S. and Majeed, S. (2010) Innovative Approach of Active Packaging in Cardboard
Carton and Its Effect on Overall Quality Attributes Such as Weight Loss, Total Soluble Solids, pH, Acidity and Ascorbic
Acid Contents of Chaunsa White Variety of Mango at Ambient Temperature During Storage. *Pakistan Journal of* [28] Okoth, E.M., Sila, D.N., Onyango, C.A., Owino, W.O. and Musyimi, S.M. (2013) Evaluation of Chemical and Nutritional
Quality Attributes of Selected Mango Varieties at Three Stages of Ripeness, Grown in Lower Eastern Province
of Kenya—Part 2. *Journal of Animal & Plant Sciences*, **17**, 2619-2630.
[29] Sarkiyayi, S., Mohammed, M. and Yakubu, A. (2013) Comparative Analysis of Nutritional and Anti Nutritional Contents
of Some Varieties of Mango (*Mangifera indica*) in Kaduna Metropolis-Nigeria. *Advance Journal of Food Science
and Technology*, **5**, 387-391.
[30] Kansci, G., Koubala, B.B. and Mbome, I.L. (2008) Biochemical and Physicochemical Properties of Four Mango Varieties
and Some Quality Characteristics of Their Jams. *Journal of Food Processing and Preservation*, **32**, 644-655.
http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00204.x
[31] Razzaq, A., Ali, Q., Qayyum, A., Mahmood, I., Ahmad, M. and Rashid, M. (2013) Physiological Responses and
Drought Resistance Index of Nine Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars under Different Moisture Conditions. *Pakistan
Journal of Botany*, **45**, 151-155.
[32] Kute, K.M., Zhou, C. and Barth, M.M. (1995) The Effect of Ozone Exposure on Total Ascorbic Acid Activity and Soluble
Solids Contents in Strawberry Tissue. *Proceedings of the Annual Meeting of the Institute of Food Technologists
*(*IFT*), New Orleans, 28 January-2 February 1995, 82.
[33] Aguayo, E., Escalona, V.H. and Artés, F. (2006) Effect of Cyclic Exposure to Ozone Gas on Physicochemical, Sensorial
and Microbial Quality of Whole and Sliced Tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, **39**, 169-177.
http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.11.005
[34] Davey, M.W., Montague, M.V., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, I.F.F., Strain, J.J., Favell,

D. and Fletcher, J. (2000) Plant L-Ascorbic Acid: Chemistry, Function, Metabolism, Bioavailability and Effects of
Processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, 825-860.
http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<825::AID-JSFA598>3.0.CO;2-6
[35] Sulaiman, S.F. and Ooi, K.L. (2012) Antioxidant and Anti Food-Borne Bacterial Activities of Extracts from Leaf and
Different Fruit Parts of *Myristica fragrans* Houtt. *Food Control*, **25**, 533-536.
http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.005
[36] Ali, A., Ong, M.K. and Forney, C.F. (2014) Effect of Ozone Pre-Conditioning on Quality and Antioxidant Capacity of
Papaya Fruit during Ambient Storage. *Food Chemistry*, **142**, 19-26.
http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.039
[37] Tzortzakis, N., Borland, A., Singleton, I. and Barnes, J. (2007) Impact of Atmospheric Ozone-Enrichment on Quality-
Related Attributes of Tomato Frui. *Postharvest Biology and Technology*, **45**, 317-325.
http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.03.004
[38] Minas, I.S., Karaoglanidis, G.S., Manganaris, G.A. and Vasilakakis, M. (2010) Effect of Ozone Application during
Cold Storage of Kiwifruit on the Development of Stem-End Rot Caused by *Botyris cinerea*. *Postharvest Biology and*
Technology, **58**, 203-210. http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.07.002
[39] Chauhan, O.P., Raju, P.S., Ravi, N., Singh, A. and Bawa, A.S. (2011) Effectiveness of Ozone in Combination with
Controlled Atmosphere on Quality Characteristics Including Lignifications of Carrot Sticks. *Journal of Food Engineering*,
102, 43-48. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.07.033
[40] Jemni, M., Otón, M., Ramirez, J.G., Artés-Hernández, F., Chaira, N., Ferchichi, A. and Artés, F. (2014) Conventional
and Emergent Sanitizers Decreased *Ectomyelois ceratoniae* Infestation and Maintained Quality of Date Palm after
Shelf-Life. *Postharvest Biology and Technology*, **87**, 33-41.
http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.08.002
[41] Thanaraj, T. and Terry, L.A. (2009) Temporal Change in Taste-and Health-Related Compounds during Postharvest
Ripening of Sri Lankan Mango Fruit (*Mangifera indica* L.). *VI International Postharvest Symposium*, Antalya, 8-12
April 2009, 1183-1189.
[42] Murillo, E., Britton, G.B. and Durant, A.A. (2012) Antioxidant Activity and Polyphenol Content in Cultivated and
Wild Edible Fruits Grown in Panama. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, **4**, 313-317.
http://dx.doi.org/10.4103/0975-7406.103261
[43] Forney, C.F. (2003) Postharvest Response of Horticultural Products to Ozone. In: Hodges, D.M., Ed., *Postharvest*
Oxidative Stress in Horticultural Crops, Food Products Press, New York, 13-54.

Capitulo IV

ÁGUA OZONIZADA INDUZ BIOATIVOS DURANTE O AMADURECIMENTO E SENESCÊNCIA DE MANGAS ‘PALMER’

ÁGUA OZONIZADA INDUZ BIOATIVOS DURANTE O AMADURECIMENTO E SENESCÊNCIA DE MANGAS 'PALMER'

Resumo

Mangas podem apresentar diferenças no conteúdo de compostos bioativos durante a pós-colheita e, principalmente, quando em fase de senescência. Para verificar essas alterações, mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais foram adquiridas e sanitizadas com água clorada por 10 minutos, água ozonizada por 10 e 20 minutos ou lavadas com água. Os frutos foram armazenados em câmara de refrigeração e avaliados após as colheita, aos 7 dias após a colheita. Para simular o tempo de comercialização, aos 7 dias, os frutos foram retirados da câmara fria e mantidos em temperatura ambiente e analisados aos 4 (7 + 4) e 8 (7 + 8) dias. No ultimo dia de comercialização (7 + 8), os níveis de putrescina, espermidina e espermina foram superiores nas mangas orgânicas tratadas com água ozonizada por 20 minutos. O teor de serotonina foi maior nos frutos em comercialização simulada e não foi detectada a presença de cadaverina em mangas orgânicas ou convencionais após a colheita ou aos 7 dias de armazenamento em câmara fria. Os níveis de rutina e quercetina foram superiores nas mangas convencionais. Entre os ácidos fenólicos analisados, os maiores teores foram de ácidos clorogênico e gálico. O conteúdo de ácido ascórbico foi superior ao encontrado para ácido dehidroascórbico. A água ozonizada utilizada na sanitização dos frutos induziu o aumento de compostos bioativos durante o armazenamento, apresentando resultados relevantes, nos frutos senescentes.

Palavras-chave: atividade antioxidante, *Mangifera indica* L., pós-colheita.

Abstract

Mango could exhibit differences in the content of bioactive compounds during post-harvest and especially when senescence phase. To check these changes, mangos 'Palmer' organic and conventional were obtained and sanitized with chlorinated water for 10 minutes, ozonated water for 10 and 20 minutes or washed in water. Fruit were on cold storage and evaluated after harvest, 7 days after harvest. To simulate shelf-life, at 7 days, the fruits were removed from the cold storage and maintained at room temperature and analyzed at 4 (7 + 4) and 8 (7 + 8) days. On the last day analyzed marketing (7 + 8), the levels of putrescine, spermidine and spermine were higher in organic mango treated with ozonized water for 20 minutes. Serotonin content was higher in fruit in simulated trading and was not detected cadaverine presence in organic or conventional mangoes after harvest or after 7 days in cold storage. Rutin and quercetin were higher in conventional mangoes. Among the phenolic acids analyzed, largest contents of acids chlorogenic and gallic. Ascorbic acid content was higher than dehydroascorbic acid. Ozonized water used for sanitizing fruits increase bioactive compounds during storage, with significant results in senescent fruit.

Keyword: Antioxidant activity, *Mangifera indica* L., Postharvest

1. Introdução

A manga (*Mangifera indica* L.) é um fruto tropical que ocorre em diversas regiões do mundo e o Brasil produz em torno de 1,2 milhões de toneladas de frutos (FAO, 2015). É um fruto importante para a economia do Brasil e de diversos países do mundo, devido à alta taxa de consumo. Por ser um fruto climatérico, apresenta produção de etileno, via S-adenosilmetionina (SAM). Além do etileno, as poliaminas (PAs) também usam SAM como precursor de espermidina e espermina (Bouchereau et al., 1999) e essas substancias podem apresentar efeito antagônico durante o amadurecimento de frutos por serem correlacionadas inversamente com os de etileno (Kusano et al., 2007). Assim, dependendo da época após a colheita, os níveis de poliaminas podem ser alterados.

Poliaminas são compostos alifáticos de nitrogênio com carga positiva em pH fisiológico, permitindo a sua interação com as moléculas de carga negativa, tais como proteínas, ácidos nucleicos ou fosfolípidos (Flores e Galston, 1982). Em frutos e vegetais, essas moléculas tem sido relacionadas com divisão celular, desenvolvimento e senescência, possui efeito protetor contra alguns tipos de estresse (Groppa e Benavides, 2008, Rossetto et al., 2015), além de apresentar efeito antioxidante, eliminando algumas espécies reativas de oxigênio (ROS) (Nayyar & Chander, 2004). Na dieta, baixas concentrações de poliaminas são essenciais para a renovação e crescimento celular, mas, quando consumidas em altos teores, podem promover o aparecimento de células anormais, muitas vezes relacionadas com neoplasias (Kalac e Krausová, 2005). Entretanto, devido à contradição que existe na literatura, conhecer os níveis dessas aminas é fundamental, principalmente quando se refere à segurança alimentar.

Diversos fatores podem induzir alterações nos níveis das poliaminas, incluindo a tipo de cultivo orgânico ou convencional (Lima e Vianello, 2011). Alguns estudos demonstram o cultivo orgânico pode induzir aumentos nos níveis desses policátions e relacionam o maior conteúdo com a longevidade após a colheita, já que as poliaminas competem pelo SAM na síntese de etileno (Kusano et al., 2007). Por outro lado, outros estudos demonstram que não ocorre alteração nos níveis de putrescina, espermidina e espemina (Rossetto et al., 2015) em diversos frutos e vegetais cultivados de modo orgânico.

Quando os frutos são colhidos, para prolongar a vida após a colheita, diversos processos físico-químicos têm sido propostos, incluindo o uso de sanitizantes. Em plantas do cultivo orgânico o uso do cloro não é permitido por formar compostos danosos à saúde (Artés et al., 2009). Água ozonizada tem sido descrita como um sanitizante seguro em diversos frutos e hortaliças. Entretanto, por ser um oxidante, pode promover alterações metabólicas, induzindo a formação de ROS tais como radicais superóxidos (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Kangasjärvi et al., 2005; Artés et al., 2009). As células, em reposta, tendem a ter um mecanismo de proteção antioxidante, que inclui os sistemas enzimáticos (superóxido dismutase, peroxidase, catalase) e não enzimático. As poliaminas que fazem parte do sistema não enzimático foram descritas por protegerem as células contra oxidação promovida por ROS, incluindo danos causados por ozônio (Bors et al., 1989).

Além de poliaminas, outros antioxidantes que ocorrem em mangas, como os ácidos fenólicos e flavonoides (Ribeiro et al., 2008; Palafox-Carlos et al., 2012) podem sofrer alteração pelo sistema de cultivo, aliado ao agente oxidante (água ozonizada) (Lima e Vianello, 2011, Lima et al., 2014). Alguns estudos descrevem alterações nos níveis de polifenóis, incluindo flavonóides, em plantas cultivadas de modo orgânico

(Asami et al., 2003). Esses fitoquímicos sofrem ainda a influencia da colheita e condições de armazenamento após a colheita (Palafox-Carlos et al., 2012). Tanto ácidos fenólicos como flavonoides tem atraído o interesse devido as suas propriedades farmacológicas, incluindo ação contra algumas linhagens de adenocarcinoma de esôfago (Faired et al., 2007) e próstata (Chen et al., 2009), atividade anti-inflamatória (Barone et al., 2009), antiúlcera e hepatoprotetora (Janbaz et al., 2002).

Entre os compostos antioxidantes, alguns estudos descrevem a presença da vitamina C em mangas e sua importância nutricional. Além disso, a vitamina C tem sido descrita por ser alterada em função do tipo de cultivo (orgânico e convencional) (Cardoso et al., 2011) em muitos frutos e hortaliças. As formas ativas de vitamina C, ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico, podem ser influenciadas também pelo tipo de antioxidante usado, como UVC e ozônio, que podem promover estresse nas células, pela formação de ROS, induzindo moléculas com potencial antioxidante, como a vitamina C (Allende et al., 2007). Além disso, muitos estudos demonstram variações no conteúdo dessa vitamina em função da pós-colheita (Lee e Kader, 2000).

Conforme descrito, as mangas podem apresentar diferenças no conteúdo de alguns antioxidantes em função da pós-colheita, como a temperatura (Ding et al., 2007), sistema de cultivo, agente sanitizante e, geralmente, os estudos são realizados apenas visando o mercado consumidor. Entretanto, muitos frutos quando já atingiram o ponto de consumo, são descartados, aumentando o lixo orgânico, mas podem conter moléculas que poderiam ser aproveitadas. Em vista disso, a hipótese é que as mangas fora do ponto de consumo e com problemas fisiológicos, no ponto de descarte, possam conter bioativos.

2. Material e métodos

2.1. Caracterização do material

Mangas (*Mangifera indica* L.) 'Palmer', adquiridas diretamente de produtores, oriundas do cultivo convencional e orgânico do Estado de São Paulo, Brasil, foram analisadas após a colheita. Os frutos produzidos em sistema orgânico foram colhidos na cidade de Borborema (latitude 21º 37' 11" S, longitude 49º 04' 25" O e 429 m de altitude) e os frutos produzidos em cultivo convencional, na cidade de Taquaritinga (latitude 21° 24′ 23″ S, longitude 48° 30′ 20″ O e altitude de 579 metros).

Para caracterizar os solos das duas propriedades, realizou-se analise química de rotina (Embrapa, 1997). A propriedade orgânica apresentou as seguintes características: pH ($CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}) 5,5; 11,0 g dm^{-3} de matéria orgânica (MO); 35,0 mg dm^{-3} de fósforo (P); 12,0 $mmol_c$ dm^{-3} de H + Al; 2,2 $mmol_c$ dm^{-3} de potássio (K); 27,0 mmolc dm^{-3} de cálcio (Ca); 6,0 mmolc dm^{-3} de magnésio (Mg); 36,0 mmolc dm^{-3} de soma de bases (SB); 48,0 mmolc dm^{-3} de capacidade de troca catiônica (CTC); saturação por bases (V) de 74,0%. Em relação aos micronutrientes, os teores encontrados foram de 25,0 mg dm^{-3} de enxofre (S); 0,3 mg dm^{-3} de boro (B); 3,8 mg dm^{-3} de cobre (Cu); 18 mg dm^{-3} de ferro (Fe); 3,4 mg dm^{-3} de manganês (Mn) e 2,7 mg dm^{-3} de zinco (Zn). A propriedade com sistema convencional apresentou as seguintes caraterísticas do solo pH ($CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}) 5,4; 12,0 g dm^{-3} de MO; 78,0 mg dm^{-3} de P; 19,0 $mmol_c$ dm^{-3} de H + Al; 1,4 $mmol_c$ dm^{-3} de K; 27,0 mmolc dm^{-3} de Ca; 6,0 mmolc dm^{-3} de Mg; 29,0 mmolc dm^{-3} de SB; 47,0 mmolc dm^{-3} de CTC; V de 60,7%. Em relação aos micronutrientes, os teores encontrados foram de 0,68 mg dm^{-3} de B; 19,1 mg dm^{-3} de Cu; 20 mg dm^{-3} de Fe; 23,7 mg dm^{-3} Mn e 3,5 mg dm^{-3} de Zn.

2.2. Coleta e preparo de amostras

Para assegurar a comparação, os frutos apresentavam a mesma idade fisiológica, ou seja, coloração da casca no estádio verde-maduro ("ombros" cheios, firmes e com a casca verde).

Após a colheita, os frutos orgânicos e convencionais foram selecionados e submetidos aos tratamentos de imersão em água, água clorada com 100 mg L^{-1} de hipoclorito de sódio durante 10 minutos e água ozonizada, utilizando-se água de abastecimento público ozonizada e como fonte de ozônio, um ozonizador (Degradatox/OZ Engenharia, Indústria de Equipamentos Geradores de Ozônio-LTDA, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) com a capacidade de gerar, aproximadamente, 1 g de ozônio L^{-1} s^{-1}, em um tanque de 180L, no qual os frutos foram divididos em dois grupos, diferenciados pelo tempo de imersão de 10 e 20 minutos.

Os tratamentos foram constituídos de lavagem em água com ou sem ozônio. Denominados como: AC, frutos provenientes de sistema convencional e lavados com água ; AO, frutos provenientes de sistema orgânico e lavados com água; CC, frutos provenientes de sistema convencional e imersos em água clorada; CO, frutos provenientes de sistema orgânico e imersos em água clorada; $Oz_{10}C$, frutos provenientes de sistema convencional imersos em água ozonizada 10 minutos; $Oz_{10}O$, frutos provenientes de sistema orgânico imersos em água ozonizada 10 minutos; $Oz_{20}C$, frutos provenientes de sistema convencional imersos em água ozonizada 20 minutos; e $Oz_{20}O$, frutos provenientes de sistema orgânico imersos em água ozonizada 20 minutos.

Posteriormente, os frutos foram armazenados em câmara de refrigeração com temperatura de 14 ± 3 ºC e 90 ± 2 %UR. As avaliações foram realizadas em 4 retiradas intercaladas. A primeira avaliação foi no dia da colheita, imediatamente após a saída

dos diferentes tratamentos de sanitização e a última na saída dos frutos da câmara de refrigeração aos 7 dias após a colheita. Para simular o tempo de comercialização, aos 7 dias, os frutos foram retirados da câmara fria e mantidos em temperatura ambiente e analisados aos 4 (7 + 4) e 8 (7 + 8) dias em temperatura ambiente (27 ± 2 °C e 65 ± 5 % UR).

A caracterização bioquímica foi realizada na região equatorial das polpas previamente pulverizadas em nitrogênio líquido e mantidas em freezer -80°C até o momento da análise.

2.3. Determinação dos compostos bioativos

2.3.1 Aminas bioativas

As aminas bioativas foram extraídas de acordo com Lima et al. (2008) e determinadas através da cromatografia de ultra performance (UPLC) com detector fotodiodo em coluna C18 pelo método determinado por Dadáková et al. (2009) adaptado. A preparação do extrato foi realizada a partir de 200 mg de manga liofilizada pesada em tubos plásticos para centrifuga, ao qual foram adicionados 3 mL de ácido perclórico. Os tubos foram agitados em vortex por 10 segundos e reservados em banho gelado por 30 minutos. Posteriormente foram centrifugados a 5000 x g a 5°C por 10' e o sobrenadante retirado e armazenado em recipiente plástico em freezer a -18°C. Após a preparação dos extratos, destes foram retirados 200 µl e colocados junto com as mesmas quantidades de tampão carbonato em tubos de vidro. A preparação do tampão carbonato foi realizada no momento da analise através da mescla de 50 ml de $NaHCO_3$ (0,5M) e 12 mL de Na_2CO_3 (0,5M e pH 9,2), acrescidas de 16,65 g de K_2CO_3 (pH 11).

Aos tubos também foram acrescentados 400 µl de cloreto de dansil (5 mg mL^{-1}) e agitados em vórtex por 10 segundos. Após 20 horas em escuro, foram acrescentados 200 µl de prolina e deixados no escuro por 1 hora, com agitação em vórtex a cada 15 minutos. Posteriormente, aos tubos foram acrescentados 1000 µl de tolueno e agitados por 1 min. O sobrenadante foi seco em linha de nitrogênio e ressuspendido em 1,5 mL de acetronitrila, grau HPLC, agitados por 1 min, levado ao banho ultrassônico por 2 min e centrifugado a 4000 x g a 4°C por 5 minutos e finalmente, injetados em UPLC (Thermo Scientific).

Para a separação cromatográfica, foi utilizado um gradiente de eluição de (A) acetonitrila a 100% e (B) acetonitrila a 50% de concentração, com a seguinte proporção: 0-2 minutos, A 40%, B 60%; 2-4 minutos, A 40-60%, B 60-40%; 4-8 minutos, A 60-65%, B 40-35%; 8-12 minutos, A 65- 85%, B 35-15%; 12-15 minutos, A 85-95%, B 15-5%; 15-20 minutos, A 95%, B 5%; 20-21 minutos, A 95-85%, B 5-15%; 21-22 minutos, A 85-75%, B 15-25%; 22-25 minutos, A 75-40%, B 25-60%; 25-28 minutos, A 40%, B 60%. A alteração de concentração linear foi realizada em todos os casos. A taxa de fluxo foi mantida a 0,7 ml min^{-1}, com injeção de 20 µL por amostra, a temperatura da coluna foi de 25°C, e as detecções foram realizadas nos comprimentos de onda 225nm.

Os resultados foram expressos em mg $100g^{-1}$ de espemina, espermidina, putrescina, serotonina e cadaverina.

2.3.2. Compostos fenólicos

Os polifenóis individuais foram determinados através da cromatografia de ultra performance (UPLC) com detector fotodiodo em coluna C18 pelo método proposto por

Escarpa e Gonzalez (1999) com adaptações. A preparação do extrato foi realizada a partir de 500 mg de manga liofilizada pesada em tubo de ensaio, ao qual foram adicionados 5mL de metanol grau HPLC. Os tubos foram agitados por 1 hora em banho ultrassônico e a cada 15minutos, agitados em vortex. Posteriormente, foram centrifugados a 6000 x g a 5°C por 10 minutos. Os sobrenadantes foram retirados e armazenados em recipientes de vidro âmbar. Esse procedimento foi repetido por mais 2 vezes, sendo que na ultima vez foi acrescentado 2,5mL de metanol na amostra. Os 3 sobrenadantes foram somados e centrifugados a 6000 x g a 5°C por 10 minutos. As amostras foram filtradas em filtro para HPLC (0,20 μm), armazenadas em recipientes de vidro âmbar e reservadas em freezer a -18°C. 1,5 ml dos extratos filtrados foram colocados em vials âmbar para leitura em UPLC.

A separação por cromatografia líquida foi realizada através de um gradiente de concentração das fases moveis: (A) metanol (100%) e (B) ácido fosfórico 0,01 M, com fluxo de 0,7 ml min^{-1}. O gradiente utilizado foi distribuído na seguinte proporção: 0-5 minutos, A 5%, B 95%; 5-10 minutos, A 5-50%, B 95-50%; 10-15 minutos, A 50-70%, B 50-30%; 15-20 minutos, A 70-80%, B 30-20%; 20-25 minutos, A 80-100%, B 20-0%; 25-30 minutos, A 100-5%, B 0-95%; 30-35 minutos, A 5%, B 95%. A alteração de concentração linear foi realizada em todos os casos. A injeção por amostra foi de 20 μL, a temperatura da coluna foi mantida a 25 °C, e os comprimentos de onda de detecção foram: 280 nm para o ácido gálico; 300 nm para os ácidos clorogênico, p-cumárico e trans-ferulico; e 340 nm para rutina e quercetina. Os resultados foram expressos em mg $100g^{-1}$ de amostra.

2.3.3. Ácidos ascórbico e dehidroascórbico

A determinação dos ácidos ascórbico e dehidroascórbico foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Pertuzatti et al. (2015) com adaptações. O extrato foi preparado a partir de 200 mg de mangas frescas pesadas em tubos de vidro, aos quais foram adicionados 4 ml de solução extratora (fria). Essa solução é composta por 10 g de ácido metafosfórico e 40 ml de ácido acético glacial (proporção para 1L). Os tubos foram agitados vigorosamente em vortex por 2 minutos e mantidos em banho ultrassônico por 30 minutos (importante manter a água do banho abaixo de 8°C). Os tubos foram centrifugados por 15 minutos a 4500 x g a 4°C e o sobrenadante retirado e colocado em recipiente âmbar. Aos tubos foram acionados, novamente 4 ml da solução extratora, agitados em vortex por 3 minutos e centrifugado por 15 minutos a 4500 x g e 4°C. Após o sobrenadante ser retirado esse procedimento foi repetido, entretanto foram adicionados apenas 2 ml da solução extratora.

Como fase móvel, foi utilizado ácido acético a 2% em fluxo isocrático de 0,5 ml min^{-1}. O tempo de leitura estabelecido foi de 15 minutos, com injeção de 20 μL por amostra. A temperatura da coluna foi de 25 °C, e o comprimento de onda de detecção foi de 248 nm para o acido ascórbico e 240 para o acido dehidroascórbico. Os resultados foram expressos em mg $100g^{-1}$ de amostra.

2.4. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento foi inteiramente casualizado com esquema fatorial 4 x 8 (dias de avaliação x tratamentos), com 3 repetições e duas amostras por repetição. Todas as análises foram realizadas em triplicata. O teste de Tukey, a uma probabilidade de 5%, foi usado para comparar as médias.

3. Resultados e discussão

3.1 Aminas bioativas

No dia da colheita e logo após os tratamentos de sanitização (cloro e água ozonizada) as mangas do cultivo convencional tratadas com cloro, assim como as do cultivo orgânico ozonizadas por 10 minutos mostraram valores maiores que os demais frutos.

Mangas do cultivo convencional e sanitizadas com água ozonizada por 10 minutos apresentaram os maiores níveis de putrescina após 7 dias em câmara fria (Figura 1 a). Os níveis dessa diamina tendem a aumentar nesse período para todos os frutos sob todos os tratamentos. O tratamento com água ozonizada parece induzir os níveis de putrescina em mangas convencionais em maior proporção do que em mangas orgânicas durante o armazenamento em baixa temperatura. A tendência de maiores teores de putrescina em mangas convencionais e ozonizadas por 10 ou 20 minutos ocorre no período de comercialização simulada 7 + 4, porém esse resultado se inverte aos 7 + 8 dias, semelhante ao encontrado nas mangas lavadas apenas com água.

Os teores de espermidina em mangas do cultivo convencional tratadas com água clorada foram maiores que os demais frutos analisados logo após a colheita e daqueles submetidos aos tratamentos de sanitização (Figura 1 b). Os níveis de espermidina após 7 dias em câmara fria foram maiores em mangas do cultivo convencional em todos os tratamentos sanitizantes aplicados, comparados com as mangas do cultivo orgânico, independente do tipo de sanitizante usado. No período de comercialização simulada 7 + 4, assim como ocorreu para putrescina, o conteúdo de espemidina nas mangas convencionais foi maior comparada com as orgânicas. Aos 7 + 8 dias de comercialização simulada, apenas as mangas orgânicas sanitizadas com água ozonizada

por 20 minutos apresentaram teores maiores de espermidina do que as mangas do cultivo convencional.

Os níveis de espermina das mangas orgânicas foram maiores que em mangas convencionais após 7 dias de armazenamento em câmara de refrigeração e nos períodos de comercialização analisados (Figura 1 c). Entretanto, o uso de água ozonizada por 20 minutos induziu aumento do conteúdo de espermina aos 7 + 8 dias de comercialização simulada, semelhante aos resultados encontrados para espermidina.

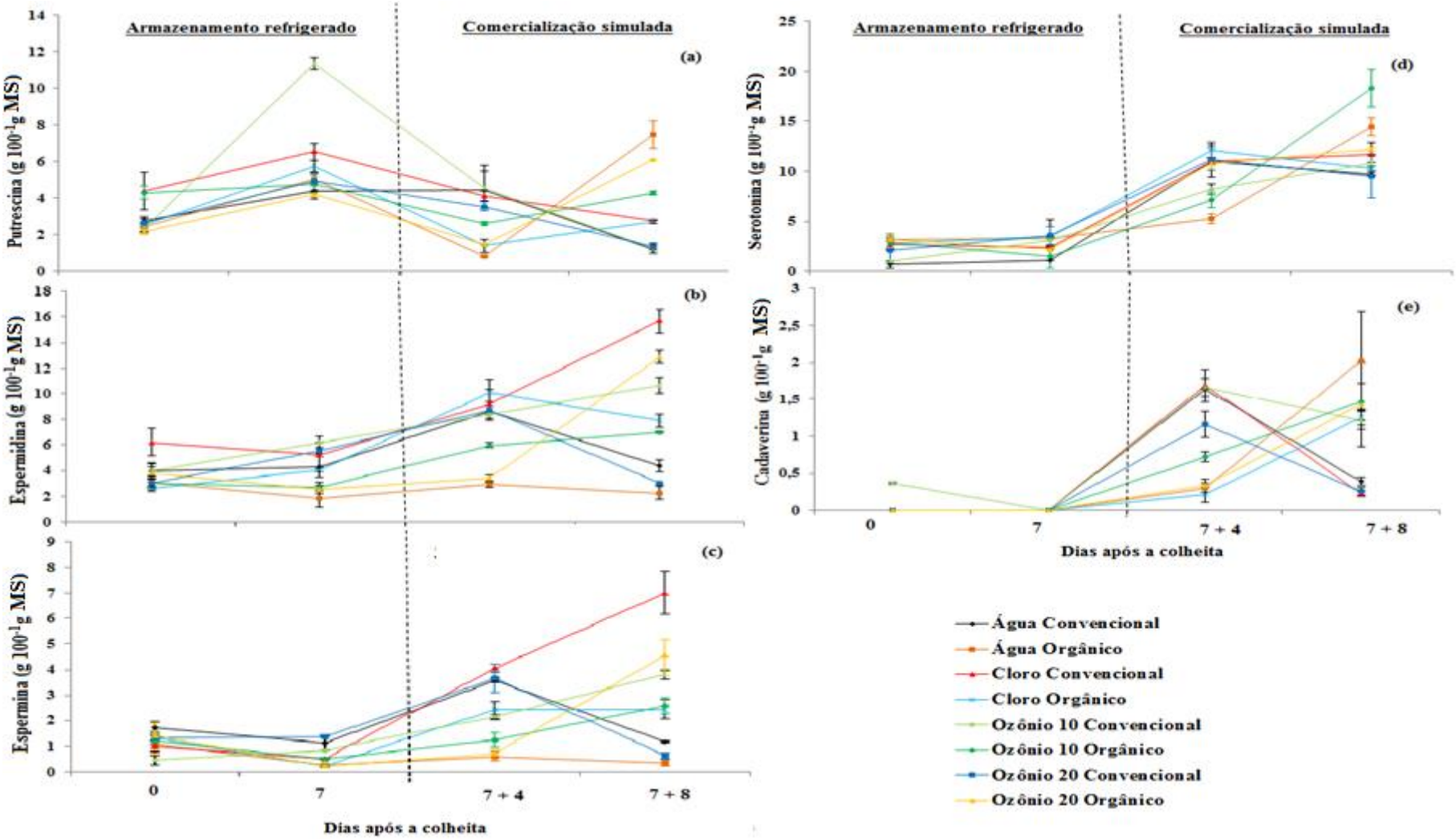


Figura 1. Níveis de putrescina (a), espermidina (b), espermina (c), serotonina (d) e cadaverina (e) em polpa de manga 'Palmer' sanitizadas, armazenadas em câmara fria e durante a comercialização simulada.

Nesse período, o uso de água clorada em mangas convencionais induziu o maior incremento dessa poliamina (Figura 2).

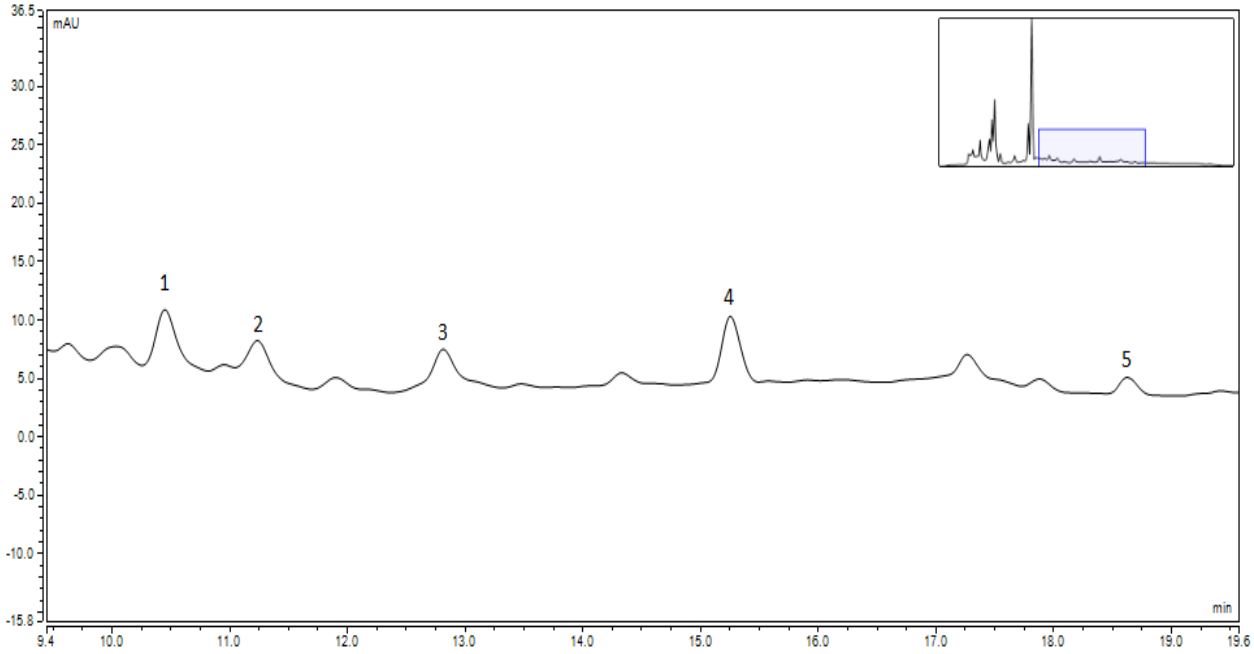


Figura 2. Cromatograma de aminas bioativas: Putrecina (1); Cadaverina (2); Serotonina (3); Espermidina (4); Espermina (5), observados em polpa de manga 'Palmer' convencionais e sanitizadas com água clorada e armazenadas por 7 dias em armazenamento refrigerado seguidas de 8 dias em temperatura ambiente.

Mangas orgânicas aos 7 dias de armazenamento em câmara fria já apresentavam sintomas de antracnose, causada pelo *Colletotrichum* spp. Por outro lado, mangas do cultivo convencional após 7 dias em câmara fria e sanitizadas com cloro ou ozônio não apresentaram sintomas de antracnose e ao fim do período de comercialização, apresentavam aspecto externo e interno aptos para o consumo e mostraram maiores teores das três poliaminas em relação as mangas do cultivo orgânico. Há relatos que os frutos e vegetais orgânicos tendem a apresentar uma vida após a colheita maior que os cultivados de forma convencional por apresentarem maior conteúdo de antioxidantes (Lima e Vianello, 2011, Rossetto et al., 2015), incluindo as poliaminas, que tem sido

relatadas por ter ação anti-senescente em alguns frutos (Valero et al., 1999). Entretanto, em nosso estudo, as mangas convencionais mostraram maiores teores de putrescina, espermidina e espermina aos 7 dias em câmara fria e aos 7 + 4 dias e apresentaram maior vida após a colheita, principalmente por não mostrarem sintomas de podridão.

Geralmente, o cultivo convencional faz uso de produtos que protegem os frutos contra certos agentes infecciosos e as mangas convencionais desse estudo não apresentaram sintomas de antracnose, como observado nas mangas orgânicas. Dessa forma, possíveis tratamentos nos frutos por produtos que os protejam contra doenças e pragas, podem ser uma forma de aumentar o conteúdo de poliaminas. Como os frutos do cultivo convencional apresentaram maiores níveis dessas poliaminas, este resultado poderia ser um indicativo de possível resistência à antracnose, porém estudos devem ser realizados.

Alguns autores tem sugerido que o conteúdo de poliaminas pode estar relacionado com infecção por fungos. Morangos que receberam tratamento por imersão de putrescina apresentam menor sintoma de infecção por fungos em relação aos não tratados (Khosroshahi et al., 2007). Dessa forma, podem ser interessantes para a manutenção da qualidade em relação à presença de fungos (estresse biótico) os níveis maiores de poliaminas.

No ultimo dia de comercialização analisado (7 + 8), os níveis de putrescina, espermidina e espermina foram superiores nas mangas orgânicas tratadas com água ozonizada por 20 minutos. O ozônio é um potente oxidante que pode induzir a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e um efeito possível seria o aumento de compostos com potencial antioxidante, capaz de eliminar ou colaborar no sistema de eliminação das ROS. Por outro lado, a presença de fungos ou outros micro-organismos

tende também a induzir um mecanismo de resposta nas células, devido a sua ação no metabolismo.

O aumento dessas poliaminas poderia ter sido um possível efeito protetor contra danos promovidos elas ROS, que ocorre em resposta ao sistema de sanitização usado ou ao ataque de patógenos. Nessa época de análise, é mais provável que a presença de antracnose tenha induzido essa resposta. Ainda, estudos sugerem que as poliaminas podem colaborar no sistema antioxidante, diminuindo a ação de ROS geradas durante vários tipos de estresse, incluindo a senescência, e como esses frutos estavam em estádio avançado de senescência, a soma de todos esses fatores podem ter afetado o nível de poliaminas. Assim, para evitar a morte do tecido, as mangas orgânicas mostraram aumento dos níveis de putescina, espermidina e espermina quando sanitizadas por 20 minutos com água ozonizada.

Evidências do papel protetor das poliaminas foram descritas por Nayyar e Chander (2004), os quais mostraram que aplicação exógena de poliaminas reduziram ROS, como peróxidos e elevaram os níveis de antioxidantes em plantas de grão de bico (*Cicer arietinum)* submetidas a estresse pelo frio e pela falta de água. Poliaminas tem sido relacionada com as células programadas para a morte, pois a sua degradação parece ser importante no mecanismo que conduz a apoptose em plantas (Hussain et al., 2011), podendo agir como protetores ou efetores (Schipper et al., 2000; Papadakis e Roubelakis-Angelakis, 2005).

Pouca alteração no conteúdo de serotonina ocorre nas mangas orgânicas ou convencionais durante o período de 7 dias em câmara fria (Figura 1 d). Entretanto, mangas orgânicas imersas por 10 ou 20 minutos em água ozonizada apresentaram teores menores de serotonina em relação às mangas convencionais aos 7 dias de armazenamento em baixa temperatura. Muitos estudos mostram que a serotonina esta

envolvida em diversas funções em humanos, incluindo apetite, age como neurotransmissor e também controla comportamentos de humor e temperatura corporal (González-Gómez et al., 2009).

Em frutos, o teor dessa amina pode variar em função da variedade e grau de amadurecimento (Garcia e Mariné, 1983). Em mangas orgânicas e convencionais, o teor de serotonina variou em todo o experimento, apresentando aumento acentuado quando foram transferidas do ambiente refrigerado para o ambiente, durante a simulação da comercialização, tanto aos 7 + 4, como aos 7 + 8. O aumento observado chega a ser 3 vezes o obtido no dia da colheita. Esse dado pode ser importante para a indústria farmacêutica, pois, geralmente, os frutos em estado avançado de deterioração são descartados, gerando lixo ou servem, muitas vezes, como adubo. Sabendo da quantidade de certas substâncias com potencial medicinal em frutos altamente senescentes, um possível caminho de estudos de extração e utilização dessas substâncias em fármacos pode ser promissor.

Não foi detectada a presença de cadaverina em mangas orgânicas ou convencionais após a colheita ou aos 7 dias de armazenamento em câmara fria (Figura 1 e). No período de comercialização simulada 7 + 4 dias, essa diamina ocorre em maior concentração em mangas convencionais e o uso de água ozonizada por 10 minutos parece não incrementar os níveis de cadaverina. Aos 7 + 8 dias de armazenamento em temperatura ambiente os níveis de cadaverina são maiores em mangas de origem orgânica. O conteúdo de cadaverina diminui com o armazenamento em temperatura ambiente nas mangas convencionais e aumenta nas mangas orgânicas. Essa diamina, formada pela ação da lisina descarboxilase (EC 4.1.1.18), parece estar relacionada com o etileno (Tomar et al., 2013).

Nesse estudo, o aumento de cadaverina em mangas orgânicas estaria demonstrando que os tecidos estavam em deterioração, comprovado pela analise visual. Para os humanos, a ingestão excessiva de cadaverina pode diminuir a pressão arterial e a frequência cardíaca, paralisia das extremidades e potenciação da toxicidade de outras aminas (Moinard et al., 2005). Entretanto, nos frutos analisados, esses teores foram abaixo dos limites de ingestão diária destas aminas, que são essenciais para o desenvolvimento, crescimento e tolerância ao estresse às plantas. Estimativas de ingestão diária de poliaminas determinados em vários países, incluindo Reino Unido, Itália, Espanha, Finlândia, Suécia e Holanda, são de 211,91 nmol dia^{-1} de putrescina, 86,96 nmol dia^{-1} de espermidina e 54,70 nmol dia^{-1} de espermina (Ralph et al., 1999).

3.2. Compostos fenólicos

3.2.1 Flavonoides

Logo após a colheita e submissão das mangas aos tratamentos, os níveis de rutina (quercetina-3-ramnosilglicosídeo) nas mangas convencionais foram superiores comparadas com as mangas orgânicas (Figura 3). Após sete dias de armazenamento em câmara fria, essa diferença desaparece, exceto para as mangas convencionais lavadas apenas com água de abastecimento publico (Figura 4). Quando as mangas foram transferidas para a temperatura ambiente (simulação de comércio), aos 7 + 4 os níveis de rutina foram significantemente maiores nas mangas convencionais tratadas com cloro ou com água ozonizada. Entretanto, aos 7 + 8 dias, assim como foi verificado para as poliaminas, os níveis de rutina nas mangas orgânicas sanitizadas com água ozonizada por 20 minutos aumentaram, o que poderia estar correlacionado como um possível mecanismo de proteção, pois outros compostos com atividade antioxidante foram

induzidos, mas, para que isso possa ser comprovado, estudos específicos devem ser conduzidos.

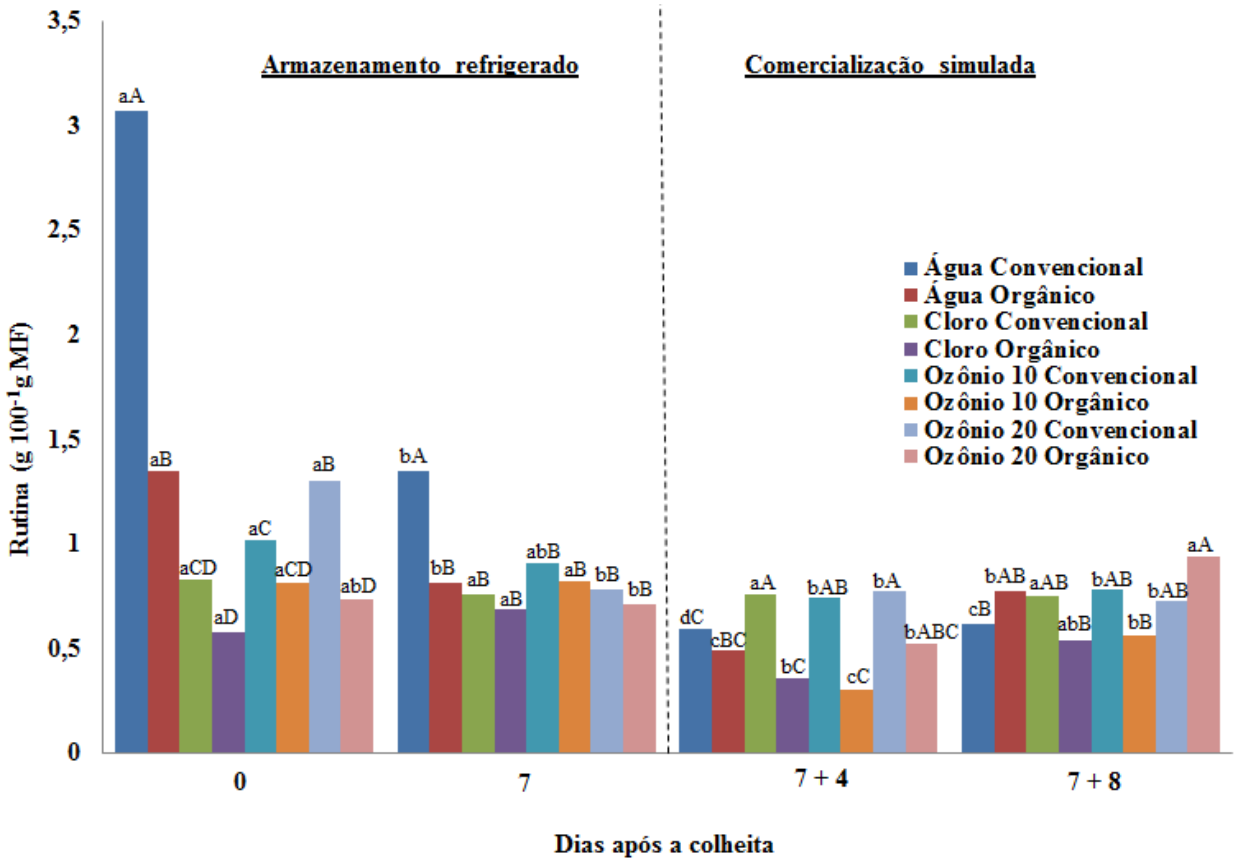


Figura 3. Níveis de Rutina em polpa de manga 'Palmer' orgânicas e convencionais, sanitizadas e armazenadas. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (comparam médias entre os dias para cada tratamento) e minúsculas (comparam as médias de cada tratamento entre os dias) não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ($P \geq 0,05$).

Esse composto parece ser maior durante todo o período de análise para as mangas convencionais, enquanto aumento significativo ocorre nas mangas orgânicas quando sanitizadas por 20 minutos, no ultimo dia de analise. Apesar de muitos estudos demonstrarem maiores conteúdos de polifenóis em frutos e vegetais de origem orgânica (Asami et al., 2003; Lima e Vianello, 2011), em mangas 'Palmer' tratadas ou não com água ozonizada, o cultivo orgânico não induziu aumento nos níveis desses compostos.

Entretanto, em mangas orgânicas sanitizadas com água ozonizada por 20 minutos, a presença de patógenos (antracnose) e o estado avançado de deterioração, podem ter induzido o aumento observado nos níveis de rutina. Esse flavonoide tem sido relacionado com a capacidade antioxidante em eliminar ROS, que poderiam ser geradas tanto pela presença do patógeno, como do estado senescente do tecido. Como a rutina tem sido descrita com múltiplas atividades farmacológicas, como bactericida, antitumoral, anti-inflamatória, antiulcera, antimutagênica, hepatoprotetora, entre outras (Janbaz et al., 2002), o aproveitamento desses frutos para fins farmacêuticos poderia ser viável.

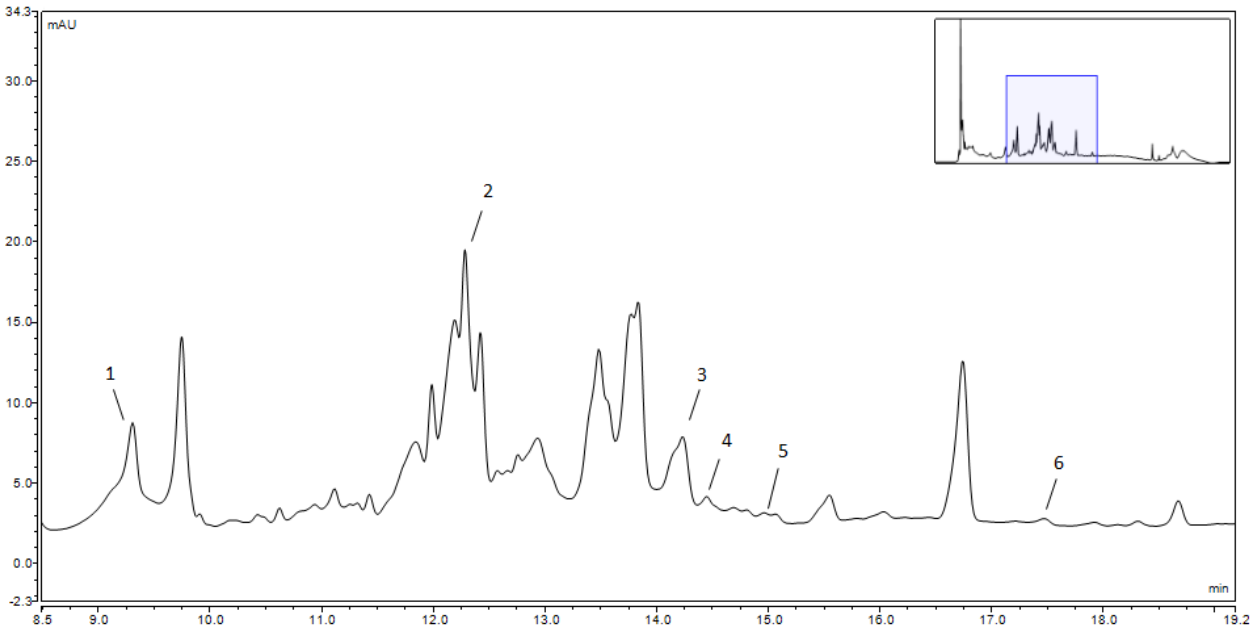
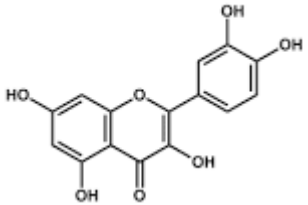


Figura 4. Cromatograma de polifenóis: Ácido gálico (1); Ácido Clorogênico (2); Ácido P-cumárico (3); Ácido Trans-ferúlico (4); Rutina (5); Quercetina (6), observados em polpa de manga 'Palmer' convencionais e lavadas com água de abastecimento publico aos 7 dias em armazenamento refrigerado.

Logo após a colheita, as mangas convencionais apresentaram maiores teores de quercetina (Tabela 1) comparadas com as mangas orgânicas lavadas apenas com água. As mangas tratadas com cloro ou com água ozonizada não apresentaram níveis detectáveis desse flavonóide. Durante o armazenamento refrigerado ou em temperatura

ambiente, não foi detectada quercetina. Outros estudos demonstram que esse flavonóide não foi detectado durante o amadurecimento de mangas ‘Palmer’, porem ocorre em outras cultivares (Ribeiro et al., 2008). Quercetina também foi o flavonóide que ocorreu em menor concentração durante o período de armazenamento a 5º C de mangas ‘Kent’ minimamente processadas (Robles-Sanchéz et al., 2009). A cultivar estudada também não apresentou conteúdo de mangiferina, importante flavonóide que ocorre em diversas cultivares de manga.

Tabela 1. Quercetina em polpas de manga 'Palmer' orgânicas e convencionais sanitizadas e armazenadas.

	Tratamentos	Armazenamento refrigerado		Comercialização simulada	
		Após a colheita	7 dias após a colheita	7+4 dias após a colheita	7+8 dias após a colheita
Quercetina (mg $100g^{-1}$MS) 	**AC**	0,06 ± 0,02	nd	nd	nd
	AO	nd	nd	nd	nd
	CC	nd	nd	nd	nd
	CO	nd	nd	nd	nd
	$Oz_{10}C$	nd	nd	nd	nd
	$Oz_{10}O$	nd	nd	nd	nd
	$Oz_{20}C$	0,08 ± 0,03	nd	nd	nd
	$Oz_{20}O$	nd	nd	nd	nd

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (linhas) e minúsculas (colunas) não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ($P \geq 0,05$). nd: não detectada. AC: frutos de sistema convencional lavados com água; AO: frutos de sistema orgânico lavados com água; CC: frutos de sistema convencional imersos em água clorada; CO: frutos de sistema orgânico imersos em água clorada; $Oz_{10}C$: frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada durante 10 minutos; $Oz_{10}O$: frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada durante 10 minutos; $Oz_{20}C$: frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada durante 20 minutos e $Oz_{20}O$: frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada durante 20 minutos.

3.2.2. Ácidos fenólicos

Entre os ácidos fenólicos analisados, os maiores teores foram de ácidos clorogênico e gálico (Tabela 2). Durante a época de armazenamento em câmara fria, os teores de ácido gálico foram maiores em mangas do cultivo convencional logo após a colheita, independente do tratamento de sanitização aplicado. Por outro lado, não ocorreu variação nos níveis de ácido clorogênico entre os tipos de cultivo ou tratamento de sanitização durante o armazenamento em baixa temperatura.

Quando as mangas foram transferidas para ambiente de comercialização simulada, o conteúdo e ambos os ácidos são alterados. Mangas orgânicas tendem a mostrar maiores teores de ácido gálico aos 7 + 4 dias, enquanto que no tempo final de simulação, aos 7 + 8 dias os teores de ácido gálico são maiores apenas nas mangas tratadas com água ozonizada e os valores atingidos são muito elevados em relação aos demais tratamentos nesse dia de armazenamento. Diferente desses resultados, o ácido clorogênico ocorre em maior quantidade nas mangas convencionais aos 7 + 4 dias nos tratamentos usando cloro e água ozonizada por 10 minutos, semelhante ao controle. Aos 7 + 8 dias, mangas convencionais contêm maior teor de ácido clorogênico em todos os frutos sanitizados, exceto quando se usou água ozonizada por 20 minutos. Nesse tratamento, não há diferença significativa entre os tipos de cultivo.

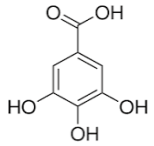
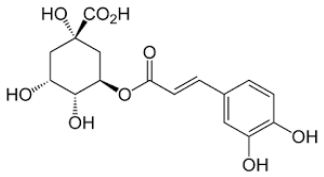
Os níveis desses dois ácidos fenólicos aumentaram muitas vezes após a retirada da câmara fria, na época em que são mantidos em temperatura ambiente. Ácidos gálico e clorogênico também foram descritos por ocorrerem em maiores níveis em mangas ‘Ataulfo’ (Palafox-Carlos et al., 2012). Em mangas ‘Kent’ minimamente processadas, o ácido gálico apareceu em maior nível (Robles-Sanchéz et al., 2009). Ambos os ácidos fenólicos tem sido relatados como um antioxidante. Tanto ácido gálico, como

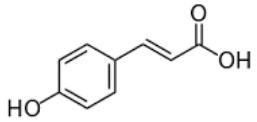
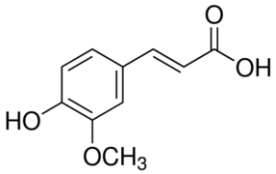
clorogênico tem sido testados como agente anticancerígeno e alguns estudos demonstram que ácido gálico pode agir induzindo a apoptose de alguns tipos de linhagens de adenocarcinoma no esôfago (Faired et al., 2007) e na próstata (Chen et al., 2009).

Durante o tempo de armazenamento em câmara fria e na comercialização simulada, houve uma diminuição do conteúdo de ácido p-cumárico (Tabela 2). Os níveis desse ácido fenólico foram maiores em mangas orgânicas sanitizadas com água ozonizada, independente do tempo de imersão, enquanto foram mantidas em baixa temperatura. Durante o período de comercialização, aos 7 + 4 dias não houve diferença entre o tipo de cultivo e os tratamentos aplicados. Entretanto, aos 7 + 8 dias, o uso de água ozonizada induziu aumento no conteúdo do ácido p-cumárico. Para ingestão de maior quantidade de ácido p-cumárico, os frutos devem ser consumidos verdes, pois de acordo com Luceri et al. (2007), esse ácido pode ser usado como uma estratégia para prevenção de problemas vasculares.

Durante o armazenamento em câmara fria, houve aumento dos níveis de ácido trans-ferulico (Tabela 2) em mangas orgânicas sanitizadas com água ozonizada ou cloro. Após a transferência das mangas para temperatura ambiente, as mangas orgânicas apresentaram maior conteúdo de ácido trans-ferulico aos 7 + 4 dias independente do tratamento de sanitização (água, cloro ou água ozonizada). Aos 7 + 8 dias, mangas sanitizadas com água ozonizada por 20 minutos, assim como nos demais compostos analisados, apresentaram maiores teores de ácido trans-ferulico. Estudos demonstram que esse ácido fenólico esta relacionado com a diminuição de glicose sanguínea, além de estar relacionado com atividade anti-inflamatória (Barone et al., 2009).

Tabela 2. Ácidos fenólicos presentes em maga 'Palmer' orgânicas e convencionais, sanitizadas e armazenadas.

	Tratamentos	Armazenamento refrigerado		Comercialização simulada	
		Após a colheita	7 dias após a colheita	7+4 dias após a colheita	7+8 dias após a colheita
Ácido gálico (mg $100g^{-1}$MS) 	**AC**	$31,27 \pm 0,70^{Cc}$	$17,03 \pm 0,27^{Bb}$	$9,26 \pm 1,19^{aB}$	$12,35 \pm 2,26^{ABe}$
	AO	$14,85 \pm 1,94^{Cb}$	$7,20 \pm 0,35^{Ba}$	$36,86 \pm 18,46^{De}$	$5,21 \pm 0,23^{Ab}$
	CC	$16,98 \pm 2,58^{Cb}$	$7,48 \pm 0,17^{Aa}$	$10,95 \pm 1,35^{Bbc}$	$9,52 \pm 1,02^{ABde}$
	CO	$15,97 \pm 1,01^{Cb}$	$9,88 \pm 0,74^{Ba}$	$15,05 \pm 0,13^{Ccd}$	$7,34 \pm 1,82^{Acd}$
	$Oz_{10}C$	$33,67 \pm 1,02^{Bc}$	$27,11 \pm 1,27^{Bb}$	$7,80 \pm 1,19^{Aab}$	$5,94 \pm 0,17^{Abc}$
	$Oz_{10}O$	$9,50 \pm 0,35^{Aa}$	$7,28 \pm 0,70^{Aa}$	$20,57 \pm 2,94^{Dde}$	$59,94 \pm 7,37^{Cf}$
	$Oz_{20}C$	$37,09 \pm 1,16^{Cc}$	$8,18 \pm 0,43^{Ba}$	$6,54 \pm 0,14^{Ba}$	$2,89 \pm 0,23^{Aa}$
	$Oz_{20}O$	$9,39 \pm 0,41^{Aa}$	$7,46 \pm 0,15^{Aa}$	$9,14 \pm 4,23^{Aab}$	$86,48 \pm 5,30^{Bf}$
Ácido clorogênico (mg $100g^{-1}$ MS) 	**AC**	$6,14 \pm 0,64^{Ca}$	$7,26 \pm 0,31^{Ca}$	$27,25 \pm 1,00^{Ba}$	$32,55 \pm 4,29^{Ad}$
	AO	$7,46 \pm 0,21^{Ca}$	$6,98 \pm 0,09^{Ca}$	$23,95 \pm 4,56^{Aa}$	$19,42 \pm 0,33^{Be}$
	CC	$7,87 \pm 0,08^{Ca}$	$7,67 \pm 0,02^{Ca}$	$25,81 \pm 1,24^{Ba}$	$46,02 \pm 3,89^{Aab}$
	CO	$7,76 \pm 0,09^{Ca}$	$7,11 \pm 0,15^{Ca}$	$23,94 \pm 0,78^{Aa}$	$18,28 \pm 3,35^{Be}$
	$Oz_{10}C$	$5,64 \pm 0,38^{Ca}$	$8,74 \pm 0,52^{Ca}$	$25,94 \pm 0,04^{Ba}$	$48,84 \pm 2,60^{Aa}$
	$Oz_{10}O$	$6,59 \pm 0,53^{Ca}$	$8,91 \pm 0,06^{Ca}$	$23,62 \pm 2,63^{Ba}$	$47,39 \pm 0,41^{Aa}$
	$Oz_{20}C$	$9,18 \pm 0,58^{Ca}$	$8,57 \pm 0,31^{Ca}$	$25,45 \pm 2,98^{Ba}$	$42,12 \pm 0,24^{Abc}$

	$Oz_{20}O$	$6,59 \pm 0,09^{Ca}$	$8,01 \pm 0,54^{Ca}$	$26,55 \pm 1,61^{Ba}$	$37,86 \pm 0,88^{Ac}$
Ácido p-cumárico (mg $100g^{-1}$ MS) 	**AC**	$1,72 \pm 0,16^{Aa}$	$1,09 \pm 0,02^{Ba}$	$0,06 \pm 0,01^{Ca}$	$0,09 \pm 0,01^{Cab}$
	AO	$0,23 \pm 0,01^{Bh}$	$0,34 \pm 0,01^{Ae}$	$0,07 \pm 0,01^{Ca}$	$0,06 \pm 0,01^{Cab}$
	CC	$0,56 \pm 0,04^{Ae}$	$0,36 \pm 0,03^{Bde}$	$0,07 \pm 0,01^{Ca}$	$0,08 \pm 0,01^{Cab}$
	CO	$0,81 \pm 0,04^{Ad}$	$0,45 \pm 0,04^{Bd}$	$0,07 \pm 0,01^{Ca}$	$0,05 \pm 0,01^{Cab}$
	$Oz_{10}C$	$0,91 \pm 0,01^{Ac}$	$0,60 \pm 0,03^{Bc}$	$0,04 \pm 0,01^{Ca}$	$0,07 \pm 0,01^{Cab}$
	$Oz_{10}O$	$0,35 \pm 0,04^{Bg}$	$0,69 \pm 0,03^{Ab}$	$0,04 \pm 0,01^{Ca}$	$0,11 \pm 0,01^{Cab}$
	$Oz_{20}C$	$1,61 \pm 0,03^{Ab}$	$0,41 \pm 0,02^{Bde}$	$0,06 \pm 0,02^{Ca}$	$0,05 \pm 0,01^{Cb}$
	$Oz_{20}O$	$0,46 \pm 0,0^{5Bf}$	$0,72 \pm 0,02^{Ab}$	$0,08 \pm 0,01^{Ca}$	$0,15 \pm 0,03^{Ca}$
Ácido trans - ferulico (mg $100g^{-1}$ MS) 	**AC**	$4,74 \pm 0,01^{Ba}$	$3,08 \pm 0,08^{Db}$	$3,97 \pm 0,10^{Ce}$	$16,57 \pm 0,24^{Aa}$
	AO	$1,81 \pm 0,07^{Ccde}$	$2,05 \pm 0,02^{Cc}$	$13,34 \pm 0,78^{Ab}$	$10,43 \pm 0,06^{Bc}$
	CC	$1,09 \pm 0,06^{Ce}$	$1,55 \pm 0,12^{Cc}$	$5,70 \pm 0,71^{Bd}$	$12,21 \pm 0,01^{Ab}$
	CO	$2,95 \pm 0,01^{Cb}$	$3,30 \pm 0,22^{Cb}$	$7,98 \pm 1,10^{Bc}$	$9,43 \pm 0,38^{Ad}$
	$Oz_{10}C$	$2,17 \pm 0,12^{Cbcd}$	$1,53 \pm 0,05^{Cc}$	$5,09 \pm 0,38^{Bd}$	$11,11 \pm 0,26^{Ac}$
	$Oz_{10}O$	$1,85 \pm 0,04^{Dcde}$	$3,82 \pm 0,08^{Cb}$	$8,18 \pm 0,15^{Bc}$	$12,85 \pm 0,29^{Ab}$
	$Oz_{20}C$	$2,28 \pm 0,22^{Cbc}$	$1,41 \pm 0,09^{Dc}$	$3,96 \pm 0,30^{Be}$	$12,75 \pm 0,14^{Ab}$
	$Oz_{20}O$	$1,42 \pm 0,05^{Cde}$	$5,20 \pm 0,13^{Ba}$	$15,75 \pm 0,06^{Aa}$	$16,12 \pm 0,23^{Aa}$

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (linhas) e minúsculas (colunas) não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ($P \geq 0,05$). AC: frutos de sistema convencional lavados com água; AO: frutos de sistema orgânico lavados com água; CC: frutos de sistema convencional imersos em água clorada; CO: frutos de sistema orgânico imersos em água clorada; $Oz_{10}C$: frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada durante 10 minutos; $Oz_{10}O$: frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada durante 10 minutos; $Oz_{20}C$: frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada durante 20 minutos e $Oz_{20}O$: frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada durante 20 minutos.

3.2.3. Ácidos ascórbico e dehidroascórbico

O conteúdo de ácido dehidroascórbico em mangas 'Palmer' orgânicas ou convencionais foi muito menor que o encontrado para ácido ascórbico em todo o período experimental (Tabela 3). Mangas do cultivo convencional contem maior teor de ácido dehidroascórbico quando mantidas em câmara fria comparadas com mangas do cultivo orgânico. O conteúdo desse ácido aumenta após a transferência para temperatura ambiente. O tratamento com água ozonizada por 20 minutos induziu aumento do teor de ácido dehidroascórbico aos 7 + 8 dias em mangas orgânicas.

Durante o armazenamento de mangas 'Palmer' em baixa temperatura, os níveis de ácido ascórbico foram maiores nas mangas orgânicas tratadas com água ozonizada (Figura 5). Quando foram levadas para temperatura ambiente, aos 7 + 4 dias, não ocorreu variação significativa entre mangas orgânicas e convencionais no tempo de imersão de 20 minutos. Entretanto, aos 7 + 8 dias, os níveis de ácido ascórbico em mangas orgânicas sanitizadas com água ozonizada por 20 minutos foram maiores comparados com as mangas convencionais, semelhante ao ocorrido com o ácido dehidroascórbico e outros compostos analisados (polifenóis e poliaminas).

Assim como encontrado nas mangas 'Palmer' orgânicas ou convencionais, sanitizadas com cloro ou água ozonizada, menores conteúdos de ácido dehidroascórbico em relação ao ácido ascórbico foi descrito durante a pós-colheita de morangos tratados ou não com alguns sanitizantes, incluindo ozônio (Allende et al., 2007). Em cultivares de manga, incluindo a 'Palmer', os valores de ácido dehidroascórbico variam entre 10,3 a 17,7% (Ribeiro et al., 2007), enquanto que os nossos resultados mostram valores inferiores em relação a esse ácido quando as mangas estavam armazenadas em câmara fria.

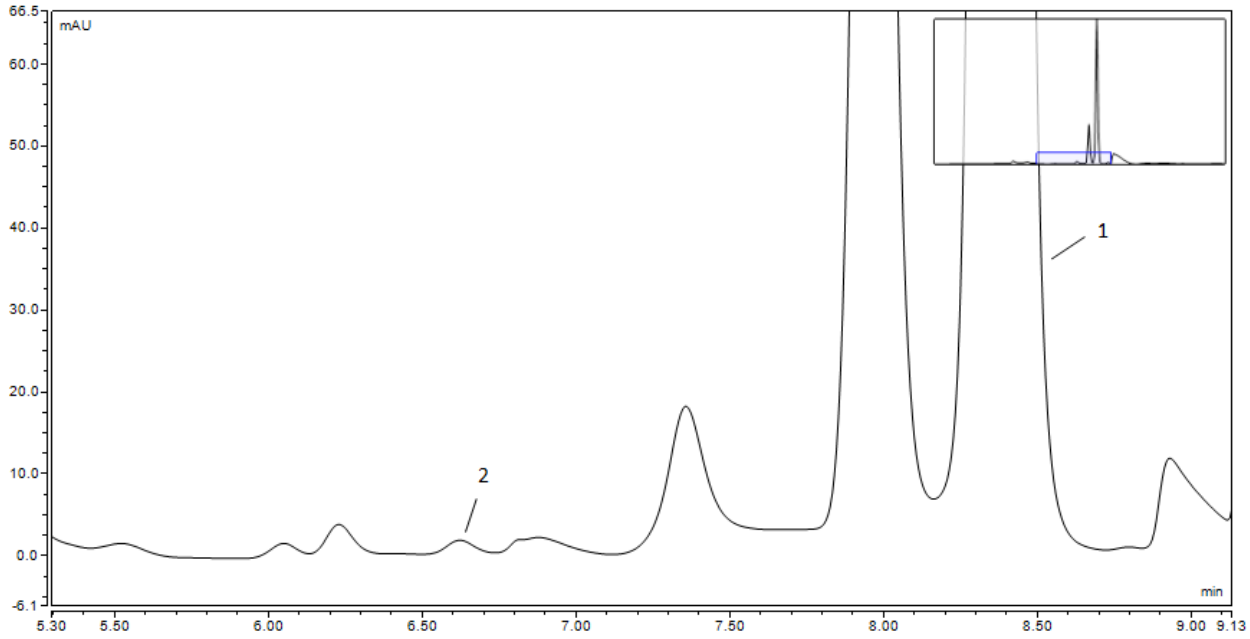
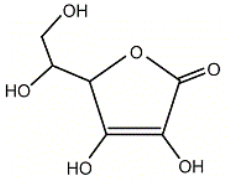
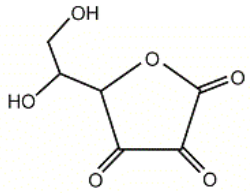


Figura 5. Cromatograma dos ácidos ascórbico (1) e dehidroascórbico (2) observados em polpa de manga 'Palmer' orgânicas sanitizadas com água ozonizada por 10 minutos e armazenadas por 7 dias em armazenamento refrigerado seguidas de 8 dias de armazenamento em temperatura ambiente.

Após a transferência para temperatura ambiente, tanto aos 7 + 4 ou 7 + 8, os teores aumentaram entre duas a sete vezes em relação aos frutos armazenados em câmara fria. A indução do ácido dehidroascórbico pode ser em função do cultivo ou condições pré-colheita, armazenamento ou pelos tratamentos sanitizantes utilizados. O ácido dehidroascórbico, juntamente com ácido ascórbico, funciona como antioxidantes protegendo as células contras ROS. Durante o processo de amadurecimento e senescência, as células geram quantidade significativa de espécies moleculares tóxicas e o incremento do conteúdo de vitamina C pode ser uma resposta a esse sistema elicitor (Allende et al., 2007).

Tabela 3. Ácidos ascórbico e dehidroascoórbico em polpas de mangas 'Palmer' orgânicas e convencionais sanitizadas e armazenadas.

	Tratamentos	Armazenamento refrigerado		Comercialização simulada	
		Após a colheita	7 dias após a colheita	7+4 dias após a colheita	7+8 dias após a colheita
Ácido ascórbico (mg $100g^{-1}$MF) 	**AC**	29.95±10.77^{Ba*}	35.86±4.52^{Bc}	1.73±0.25^{Cd}	50.84±5.15^{Aa}
	AO	29.08±0.90^{Ba}	54.99±0.57^{Ab}	1.20±0.05^{Cd}	25.42±4.81^{Bc}
	CC	13,56±4.65^{Bc}	54.19±0.01^{Ab}	2.33±0.23^{Cd}	50.73±0.70^{Aa}
	CO	37.03±1.46^{ABa}	31.38±3.70^{Bc}	46.27±1.31^{Abc}	40.44±1.93^{ABab}
	$Oz_{10}C$	26.46±0.90^{Bab}	27.65±3.58^{Bc}	61.62±3.97^{Aa}	35.84±13.98^{Bbc}
	$Oz_{10}O$	32.29±1.26^{Ba}	70.32±6.22^{Aa}	34.66±0.81^{Bc}	39.74±3.15^{Bab}
	$Oz_{20}C$	16.43±2.16^{Cbc}	51.09±0.95^{Ab}	54.78±8.87^{Aab}	35.14±4.17^{Bbc}
	$Oz_{20}O$	31.08±5.16^{Ba}	58.02±4.05^{Aab}	50.29±8.87^{Aab}	32.80±6.13^{Bbc}
Ácido dehidroascorbico (mg $100g^{-1}$ MF) 	**AC**	1.06±0.28^{Da}	2.81±0.40^{Ca}	13.57±2.79^{Aa}	6.06±0.85^{Bc}
	AO	0.41±0.14^{Ca}	n.d.	4.69±0.62^{Bbc}	6.59±0.62^{Abc}
	CC	0.38±0.12^{Ca}	2.05±0.26^{Cab}	14.16±1.37^{Aa}	10.38±0.79^{Ba}
	CO	0.69±0.03^{Ca}	n.d.	3.70±0.55^{Bc}	8.09±0.29^{Ab}
	$Oz_{10}C$	0.33±0.02^{Ba}	0.65±0.11^{Bbc}	3.47±0.78^{Ac}	4.84±0.77^{Ac}
	$Oz_{10}O$	0.18±0.00^{Ba}	0.27±0.03^{Bbc}	2.88±1.03^{Ac}	1.66±0.25^{Abd}
	$Oz_{20}C$	1.94±1.41^{Ba}	0.89±0.27^{Babc}	6.27±0.89^{Ab}	4.90±0.99^{Ac}
	$Oz_{20}O$	0.60±0.11^{Ca}	0.12±0.04^{Cbc}	3.70±0.48^{Bc}	6.55±0.64^{Abc}

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (linhas) e minúsculas (colunas) não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ($P \geq 0,05$). nd: não detectada. AC: frutos de sistema convencional lavados com água; AO: frutos de sistema orgânico lavados com água; CC: frutos de sistema convencional imersos em água clorada; CO: frutos de sistema orgânico imersos em água clorada; $Oz_{10}C$: frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada, durante 10 minutos; $Oz_{10}O$: frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada durante 10 minutos; $Oz_{20}C$: frutos de sistema convencional imersos em água ozonizada, durante 20 minutos e $Oz_{20}O$: frutos de sistema orgânico imersos em água ozonizada, durante 20 minutos.

Em nosso estudo verificamos que a manutenção dos frutos em temperatura ambiente, no período de comercialização não promoveu diminuição no conteúdo de vitamina C (ácido ascórbico + ácido dehidroascórbico). De acordo com Lee e Kader (2000), o conteúdo de ácido ascórbico pode aumentar em alguns frutos com o amadurecimento, mas os autores afirmam que esse processo não ocorre em mangas. Nossos resultados mostram que as maiores perdas de vitamina C ocorreram em frutos não tratados com água ozonizada, principalmente aos 7 + 4 dias. Por outro lado, mangas do cultivo convencional e sanitizadas com água ozonizada por 20 minutos apresentaram os menores níveis de vitamina C.

O uso de ozônio pode promover a degradação de muitas substâncias e de acordo com Tiwari et al. (2009), tratamentos com ozônio em suco de morango induziu diminuição dos níveis de vitamina C. Há afirmações que cultivo orgânico pode promover aumento de alguns compostos com propriedades antioxidantes, como a vitamina C, entretanto os estudos ainda são inconclusivos (Lima e Vianello, 2011;Picchi et al., 2012), como verificado com a nossa pesquisa. Em mangas 'Palmer' existe uma tendência de maiores teores em frutos do cultivo orgânico, mas os tratamentos pós-colheita podem ter influenciado, assim como o processo de amadurecimento e senescência, principalmente nas mangas fora do ponto de consumo, como ocorreu aos 7 + 8 dias nos frutos sanitizados com água ozonizada por 20 minutos.

Assim como encontramos outros compostos com propriedades antioxidantes em maior conteúdo nos frutos fora do ponto de consumo, talvez um estudo de obtenção de bioprodutos a partir desse material seria interessante, como já comentado anteriormente, para indústria farmacêutica.

Conclusão

Água ozonizada utilizada para sanitizar os frutos de manga 'Palmer' induziu o aumento de compostos bioativos durante o amadurecimento.

Frutos senescentes apresentaram teor mais elevado de compostos bioativos, podendo ser utilizado como uma alternativa para a indústria farmacêutica. Entretanto pesquisas precisam ser realizadas para verificar a atuação desses compostos produzidos através de frutos impróprios para consumo nos organismos.

Referências

Allende, A., Marin, A., Buendia, B., Tomas-Barberan, F., Gil, M.I., 2007. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O_3, superatmospheric O_2 and high CO2) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. Postharvest Biol. Technol. 46, 201–211.

Artés, F., Gómez, P., Aguayo, E., Escalona, V., Artés-Hernández, F.,2009. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. Postharvest Biol. and Technol. 51, 287–296.

Asami, D.K., Hong, Y.-J., Barrett, D.M., Mitchell, A.E., 2003. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. J. Agric. Food Chem. 51, 1237−1241.

Barone, E., Calabrese, V., Mancuso, C., 2009. Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases. Biogerontol. 10, 97-108.

Bors, W., Langebartels, C., Michel, C. , Sanderman Jr., H., 1989. Polyamines as radical scavengers and protectants against ozone damage. Phytochem. 28 (6), 1589-1596.

Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F., Martin-Tanguy, J., 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. Plant Sci. 140, 103–125.

Cardoso, P.C., Tomazini, A.P.B., Stringheta, P.C., Ribeiro, S.M.R., Pinheiro-Sant'ana, H.M., 2011. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. Food Chem. 126 (2), 411-416.

Chen, B., Friedman, B., Cheng, Q., Tsai, P., Schim, E., Kleinfeld, D., Lyden, P.D., 2009. Severe blood-brain barrier disruption and surrounding tissue injury. Stroke. 40, 666 – 674.

Dadáková, E., Nova, T.P., Kalac, P., 2009. Content of biogenic amines and polyamines in some species of European wild-growing edible mushrooms. Eur. Food Res. and Technol. 230, 163–171.

Escarpa, A., Gonzalez, M.C., 1999. Fast separation of (poly) phenolic compounds from apples and pears by high-performance liquid chromatography with diode-array detection. J. of Chromatogr. A, 830, 301–309.

Ding, Z., Tian, S., Zheng, X., Zhou, Z., Xu, Y., 2007. Responses of reactive oxygen metabolism and quality in mango fruit to exogenous oxalic acid or salicylic acid under chilling temperature stress. Physiol. Plant. 130, 112–121.

Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997. Manual de métodos de análises de solo, second ed. Rio de Janeiro, Brasil.

Fao. Food and agriculture organization of the united nations. Perspectivas agrícolas 2015-2024. https://www.fao.org.br/download/PA20142015CB.pdf.

Faried, A., Kurnia, D., Faried, L.S. , Usman, N., Miyazaki, T., Kato, H., Kuwano, H., 2007. Anticancer effects of gallic acid isolated from Indonesian herbal medicine, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, on human cancer cell lines. Internatl J. of Oncol. 30, 605-613.

Flores, H.E., Galston, A.W., 1982. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid cromatography. Plant Physiol. 69, 701-706.

García, C., Mariné, A., 1983. Contenido de serotonina em alimentos frescos y elaborados. Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment. 23, 60– 70.

González-Gómez, D., Lozano, M., Fernández-León, M.F., Ayuso, M.C., Bernalte, M.J., Rodríguez, A.B., 2009. Detection and quantification of melatonin and serotonin in eight Sweet Cherry cultivars (*Prunus avium* L.). Eur. Food Res. Technol., 229, 223–229.

Groppa, M.D., Benavides, M.P., Polyamines and abiotic stress: recent advances, 2008. Amino Acids 34, 35–45.

Hussain, S.S., Ali, M., Ahmad, M., Siddique, K.H.M.,2011. Polyamines: Natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. Biotechnol. Advances. 29, 300–311.

Janbaz, K.H., Saeed, S.A., Gilani, A.H.,2002. Protective effect of rutin on paracetamol- and CCl4-induced hepatotoxicity in rodents. Fitoter. 73, 557–563.

Kalac, P., Krausová, P.A., 2005. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. Food Chem. 90, 219-230.

Kangasjärvi, J., Jaspers, P., Kollist, H., 2005. Signalling and cell death in ozone-exposed plants. Plant Cell Environ. 28, 1021–1036.

Khosroshahi, M.R.Z., Esna-Ashari, M., Ershadi, A., 2007. Effect of exogenous putrescine on post-harvest life of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) fruit, cultivar Selva. Sci. Hortic. 114, 27–32.

Kusano, T., Yamaguchi, K., Berberich, T., Takahashi, Y., 2007. Advances in polyamine research, J. Plant Res. 120, 345–350.

Lee, S.K., Kader, A. A., 2000. Preharvest and postharvet factors influencing vitamin C content of horticultural crops. Postharvest Biolol. & Technol. 20(3), 207–220.

Lima, G.P.P., Rocha, S, Takaki, M, Ramos, P.R.R., Ono, E.O, 2008. Comparison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and organic methods. Int. J. Food Sci. Techn. 43, 1838–1843.

Lima, G.P.P., Vianello, F., 2011. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. International J. Food Sci. Technol., 46, 1-13.

Lima, G.P.P., Machado, T.M., Oliveira, L.M. de, Borges, L. da S., Pedrosa, V. de A., Vanzani, P., Vianello, F., 2014. Ozonated water and chlorine effects on the antioxidant properties of organic and conventional broccoli during postharvest. Sci. Agric. 71, 151-156.

Luceri, C., Giannini, L., Lodovici, M., Antonucci, E., Abbate, R., Masini, E., Dolara, P., 2007. p-Coumaric acid, a common dietary phenol, inhibits platelet activity in vitro and in vivo. British J. of Nutr. 97, 458–463.
Moinard, C., Cynober, l., Bandit, J.P., 2005. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. Clinical Nutri. 24, 184-187.

Nayyar, H., Chander., S., 2004. Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea. J. Agronomy & Crop Sci.190, 355-365.

Palafox-Carlos, H., Yahia, E.M., González-Aguilar, G.A., 2012. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. Food Chem. 135, 105–111.

Papadakis, A.K., Roubelakis-Angelakis, K.A., 2005. Polyamines inhibit NADPH oxidase-mediated superoxide generation and putrescine prevents programmed cell death induced by polyamine oxidase-generated hydrogen peroxide. Planta. 220, 826–837.

Picchi, V., Migliori, C., Scalzo, R.L., Campanelli, G., Ferrari, V., Cesare, L.F.D., 2012. Phytochemical content in organic and conventionally grown Italian cauliflower. Food Chem. 130 (3), 501–509.

Pertuzatti, P.B., Sganzerla, M., Jacques, A.C., Barcia, M.T., Zambiazi, R.C., 2015. Carotenoids, tocopherols and ascorbic acid content in yellow passion
fruit (*Passiflora edulis*) grown under different cultivation systems. LWT - Food Sci. and Technol. 64, 259 -263.

Ralph, A., Englyst, K., Bardócz, S., 1999. Polyamine content of the human diet. In: Bardócz S, White A, ed. Polyamines in Health and Nutrition. London.

Ribeiro, S.M.R., Queiroz, J.H., Queiroz, M.E.L.R., Campos, F.M., Sant'Ana, H.M.P., 2007. Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L.) pulp. Plant Foods for Human Nutr. 62, 13-17.

Ribeiro, S.M.R., Barbosa, L.C.A., Queiroz, J.H., Knödler, M., Schieber, A., 2008. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. Food Chem. 110, 620–626.

Robles-Sánchez, R.M., Rojas-Graü, M.A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G.A., Martín-Belloso, O., 2009. Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut 'Kent' mango (*Mangifera indica* L.). Postharvest Biol. and Technol. 51, 384–390.

Rossetto, M.R.M., Vianello, F., Saeki, M.J., Lima, G.P.P., 2015. Polyamines in conventional and organic vegetables exposed to exogenous ethylene. Food Chem. 188, 218–224.

Schipper, R.G., Penning, L.C.;, Verhofstad, A.A., 2000. Involvement of polyamines in apoptosis. Facts and controversies: effectors or protectors? Semin. Cancer Biol. 10, 55-68.

Tomar, P. C., Lakra, N., Mishra, S.N., 2013. Cadaverine. Plant Signal. & Behav. 8(10), e25850.

Tiwari, B.K., O'Donnell , C.P., Patras , A., Brunton, N., Cullen, P.J., 2009. Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. Food Chem. 113 (4), 1119-1126.

Valero, D., Martinez-Romero, D., Serrano, M., Riquelme, M. F., 1999. Polyamine response to external mechanical bruising in two mandarin cultivars. Hort. Sci. 33, 1220 – 1223.

Capitulo V

SMOOTHIES A BASE DE MANGA ESTIMULA CONSUMO DE FRUTAS

SMOOTHIES A BASE DE MANGA ESTIMULA CONSUMO DE FRUTAS

Resumo

Para criar diferentes sabores e permitir uma textura aceitável, frutas e hortaliças podem ser combinadas, caracterizando os *Smoothies*. Avaliou-se as alterações das características sensoriais, físico-químicas, bioquímicas, microbiologia e capacidade antioxidante de *smoothies* a base de manga 'Palmer'. Duas composições diferentes de *smoothies* foram avaliadas (1- Manga 'Palmer' e limão; 2- Manga 'Palmer'; uva verde; limão e gengibre) aos 0, 4, 7, 11 e 14 dias a 5°C e 0, 4 e 7 dias a 15°C. O *smoothie* 2 apresentou o maior teor de sólidos solúveis, enquanto o *smoothie* 1 apresentou pH mais ácido. A acidez titulável foi maior aos 7 dias de armazenamento independente do *smoothie* e da temperatura armazenada, decrescendo durante o armazenamento. Alterações na cor (ΔE) foram mais pronunciadas no *smoothie* 2, que também apresentou maior conteúdo de fenóis totais aos 11 dias. As maiores atividades antioxidantes nos *smoothies* determinadas através dos métodos de Dpph, Frap e Abts, foi observada aos 4 dias. Os *smoothies* armazenados a 15°C apresentaram vida útil de 4 dias. Ambos *smoothies* são aceitáveis para consumo de acordo com a análise sensorial realizada, considerando, assim, *smoothies* a base de manga como uma excelente opção para estimular o consumo de frutas.

Palavras-chave: mescla de frutas; atividade antioxidante; consumo de fruta alternativo.

Abstract

To create different flavors and allow acceptable texture, fruit and vegetables may be combined, characterizing smoothies. We evaluated changes in sensorial characteristics, physical-chemical, biochemical, microbiological and antioxidant capacity of the mango 'Palmer' smoothies. Two different smoothies compositions were evaluated (1- mango and lemon; 2- mango; white grape, lemon and ginger) at 0, 4, 7, 11 and 14 days at 5 °C and 0, 4 and 7 days at 15 °C. The smoothie 2 had the highest content of solids soluble, while the smoothie 1 showed pH more acidic. The titratable acidity was higher at 7 days independent smoothie and storage temperature decreased during storage. Changes in color (ΔE) were more pronounced in the smoothie 2, which also showed the highest content of total phenols to 11 days. Highest antioxidant activity in smoothies determined by DPPH, Frap and Abts methods was observed to 4 days. Smoothies stored at 15 °C had a useful life of 4 days. Both smoothies are acceptable for consumption according to the sensorial analysis, considering thus smoothies as an excellent option to stimulate consumption of fruit.

Keywords: fruit blend; antioxidant activity; alternative fruit consumer.

1. Introdução

Frutas e hortaliças são parte essencial da nutrição humana (Boeing et al., 2007). Com as mudanças impulsionadas pela sociedade moderna, não apenas no estilo e qualidade de vida, mas também sobre a consciência em relação a questões de saúde e bem-estar (Barrett & Lloyd, 2012; Layman, 2014), os consumidores tendem a preferir produtos alimentares relacionados a benefícios de saúde com etiquetas concisas e ingredientes simples (Falguera, Aliguer, & Falguera, 2012).

A maior parte das frutas e vegetais são consumidos frescos ou transformados industrialmente, tendência crescente, principalmente, quando relacionadas às bebidas prontas para consumir (Cagno et al., 2011). Para criar diferentes sabores e permitir uma textura aceitável, sucos de frutas podem ser utilizados, caracterizando os *Smoothies* por uma elevada concentração de nutrientes com baixo teor de energia (Watzl, 2008).

Assim, os *Smoothies* de frutas comerciais são uma opção disponível no mercado, o que poderia ser uma escolha conveniente para complementar um dieta saudável, devido às suas propriedades promotoras de saúde (Keenan, et al., 2011).

Os fitoquímicos, amplamente distribuídos em frutas, hortaliças, e seus produtos, que possuem um alto potencial antioxidante *in vitro*, são capazes de eliminar espécies de radicais de oxigênio (ROS) e, consequentemente, reduzir os danos celulares oxidativos (Spormann et al., 2008).

Como vários métodos foram desenvolvidos para medir a capacidade antioxidante de hortaliças e os resultados geralmente dependem do tipo de produto e o método utilizado, o objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações das características sensoriais, físico-químicas, bioquímicas, microbiologica e principalmente da atividade antioxidante de *smoothies* a base de manga ‘Palmer’ durante o armazenamento.

2. Material e métodos

2.1 Material vegetal e preparação dos *smoothies*

Os materiais vegetais (manga, uva, limão e gengibre) foram adquiridos de supermercado de Cartagena (Espanha) em julho de 2015. Esses produtos foram sanitizados com solução de 75 mg L^{-1} de NaCl durante 2 minutos e lavados com água por 1 minuto. Mangas e gengibre tiveram a casca retirada e do limão se utilizou somente o sumo. Todos os produtos foram cortados e homogeneizados em um robô de cozinha Thermomix (TM 21, Vorwerk, Espanha).

De acordo com a composição, foram preparados dois diferentes *smoothies,* estabelecidos com base em formulações previamente testadas e aprovadas por uma equipe treinada. Na tabela 1 observa-se a composição dos *smoothies*.

Tabela 1. Composição dos *smoothies* a base de manga.

	Composição	**%**
***Smoothie* 1**	Manga 'Palmer'	90,9
	Limão	9,1
***Smoothie* 2**	Manga 'Palmer'	62,4
	Uva verde sem semente	31,2
	Limão	6,2
	Gengibre	0,2

Depois de preparados, os *smoothies* foram acondicionados em tubos Falcon de 50 mL para facilitar a extração dos produtos durante o período de avaliação. Os tubos ficaram armazenados na câmara de refrigeração da planta piloto da Universidade Politécnica de Cartagena (UPCT), divididos em 2 grupos, de acordo com a temperatura de armazenamento, a 5 e 15°C.

Para conhecer a evolução da qualidade dos *smoothies* durante a vida comercial, foram avaliados aos 0, 4, 7, 11 e 14 dias a 5°C e 0, 4 e 7 dias a 15°C. Após caracterização físico-química e microbiológica, os *smoothies* foram armazenados em tubos de 5 mL e congelados a -80°C para a caracterização bioquímica.

2.2. Caracterização físico-química

2.2.1 Cor

A cor dos batidos foi determinada utilizando o colorímetro Minolta CR400 em tubos de ensaio. Para a calibração do equipamento, utilizou-se uma placa branca para comparar as medições com o espaço de cor CIELAB. Foi utilizado o método de analise espacial de cor L a* b*, nos quais L representa a luminosidade (de branco a negro), a* e b* as coordenadas de cromaticidade (vermelho-verde e amarelo-azul, respectivamente). Para cada análise se realizaram 3 repetições por tratamento. A determinação da diferença total de cor entre as três coordenadas realizada através da formula:

$$\Delta E^* = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{1/2}$$

2.2.2 pH

O pH dos *smoothies* foi mensurado diretamente nos tubos Falcon com o auxilio de um pHmetro (Basic 20 Crison, Barcelona, Espanha), após calibração diária com os padrões de pH 4 e 7, a temperatura ambiente.

2.2.3 Sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis (SS) foram determinados com um refratômetro digital portátil (Atago N1, Tokio, Japão) a 20ºC, calibrado previamente com agua destilada e os resultados expressos em °Brix.

2.2.4 Acidez titulável

A acidez titulável (AT) foi determinada com um titulador automático (Metrohm, 716, DMS Titrino, Suíça), através de uma solução que continha 5 mL dos *smoothies* e 45 mL de agua destilada. Uma vez homogeneizada, a solução foi avaliada com NaOH 0,1 N a pH 8,1 e os resultados expressos em g de ácido cítrico 100 mL^{-1} (AOAC, 1984).

2.3 Análises microbiológicas

Retiraram-se amostras de 5g de cada avaliação programada durante a conservação dos *smoothies,* que foram homogeneizadas em uma solução salina

peptonada (pH = 7) a 90 % (Scharlau Chemie S.A., Barcelona, Espanha) durante 10 segundos em uma bolsa *stomacher* estéril (Modelo 400 Bags 6041, Londres, Reino Unido) usando um mastigador (Clowort Stomacher 400 Lab, Seward, medical Londres, Reino Unido). Com isso se obteve uma solução mãe (10^{-1}) a partir da qual foram feitas as diluições necessárias em função dos microrganismos analisados.

Para a enumeração de cada grupo microbiano (mesófilos, psicrófilos, mofos e leveduras), preparou-se uma bateria de soluções com 9 mL de água peptonada estéril em tubos de ensaio. Pipetou-se assepticamente uma alíquota de 1 mL para os cultivos de bactérias e 0,1 mL para mofos e leveduras sobre 20 mL do meio de cultivo apropriado para cada microorganismo. As condições de incubação e os meios de cultivo empregados para cada microorganismo foram: para mesófilos e psicrófilos, ágar modificado para contagem em placas (PCA) (Scharlau Chemie, Barcelona, Espanha), sendo os mesófilos incubados a 37ºC durante 1 dia e os psicrófilos a 5 °C durante 7 dias; os fungos e leveduras se cultivaram em ágar rosa de bengala (Scharlau Chemie, Barcelona, Espanha) e incubados a 25 °C durante 7 dias. Todas as contagens microbianas foram expressas como log UFC g^{-1}. Foram usadas 3 repetições por tratamento em dia de avaliação.

2.4 Análise sensorial

Foi baseada em uma equipe de laboratório integrada por pessoas que conheciam o produto e os principais atributos de qualidade específicos do *smoothies* estudado, seguindo protocolos internacionais (ASTM STP 913, 1986) na referida sala de analise sensorial do Instituto de Biotecnología Vegetal (IBV), da UPCT. A equipe foi treinada segundo as normas estabelecidas pela ISO 8586-1 (1993) e formada por 10 pessoas (25-68 anos de idade). Analisou-se a aparência, aroma, sabor, textura e aceitabilidade global, além da presença de alterações na cor, aroma, sabor, granulosidade e precipitações ou separações de fases. Utilizou-se uma escala idônea de 5 pontos, na qual 3 foi o limite aceitável para comercialização e 5 a qualificação máxima.

2.5 Determinações de fenóis totais e atividade antioxidante

A preparação do extrato dos *smoothies* para determinação dos conteúdos de fenóis totais e atividade antioxidante, foi realizada através de 1g de amostra congelada e protegida da luz e, ao qual foi acrescentado 2 mL de metanol (MeOH). As soluções foram agitadas em um agitador orbital (Stuart, Staffordshire, Reino Unido) a 200 g por 1 hora, livre de luz, em uma caixa de poliestireno com gelo triturado. O sobrenadante foi transferido para *eppendorfs* de 1,5 mL e centrifugado a 15000 g, 4°C por 10 minutos.

O conteúdo de fenóis totais foi determinado pelo método de Singleton e Rossi (1965) com algumas modificações. Dispuseram-se 19,2 μL do extrato em uma placa de poliestireno de 96 poços (Greiner Bio-one, Frickenhausen, Alemanha) aos quais de acrescentaram 29 μL do reativo Folin-Ciocalteu 1 N. Esta mistura foi incubada durante 3 minutos a temperatura ambiente e livre de luz. Após a incubação, foram adicionados 192 μL de uma solução de Na_2CO_3 (0,4%) e NaOH (2%). A solução foi deixada reagindo durante 1 hora livre de luz, para posteriormente ser medida em absorbância a 750 nm com um leitor de placas multiscan (Tecan Infininte M200, Männedorf, Suíça). O conteúdo de fenóis totais foi expresso em equivalentes de ácido gálico por 100 g^{-1} de amostra fresca. Todos os extratos foram analisados em triplicata.

A capacidade antioxidante total foi determinada por 3 métodos analíticos: DPPH, FRAP e ABTS.

2.5.1 DPPH

Este método se baseia na avaliação da capacidade de captação de radicais livres (Brand-Williams et al., 1995). Preparou-se uma solução de 0,7 mM do radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) em metanol duas horas antes do ensaio. Antes de utiliza-lo, sua absorbância foi ajustada para 1,1 ± 0,02. Adicionaram-se 21 μL de extrato, em uma placa de poliestireno de 96 poços (Greiner Bio-one, Frickenhausen, Alemanha) e 194 μL da solução de DPPH. A amostra com a solução de DPPH reagiu durante 1 hora em temperatura ambiente e livre de luz. A absorbância foi medida a 515 nm usando um leitor de placas mutiscan (Tecan Infinite M200, Männedor, Suíça). Os resultados foram expressos como atividade antioxidante equivalente de os resultados

foram expressos em mg de Trolox por 100^{-1}g. Todos os extratos foram analisados em triplicata.

2.5.2 FRAP

Este método se baseia na capacidade de redução do ferro no plasma (Ferric reducing ability of plasma-FRAP) como uma medida para quantificar o poder antioxidante das amostras (Benzi e Strain, 1999). Preparou-se uma solução buffer que continha um tampão acetato (300 mM; pH: 3,6), TPTZ (10 mM) e $FeCl_3$ (20 mM) em uma proporção de 10:1:1, que foi incubada a 37 °C durante 2 h livre de luz. Após a incubação, 6 μL do extrato das amostras foram dispostos em placa de poliestireno de 96 poços (Greiner Bio-one, Frickenhausen, Alemanha) com 198 μL da solução buffer, que reagiu durante 1 h em escuro e a temperatura ambiente. A absorbância foi realizada a 593 nm usando um leitor de placas mutiscan (Tecan Infinite M200, Männedor, Suíça). Os resultados foram expressos como atividade antioxidante equivalente e os resultados foram expressos em mg de Trolox por 100^{-1}g. Todos os extratos foram analisados em triplicata.

2.5.3. ABTS

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS (Re et al., 1999), elaborou-se uma solução estoque de 14 mM ABTS e 4,9 mM de $K_2S_2O_8$. A partir da solução de estoque, fez-se uma solução da proporção 1:1 que foi deixada reagindo durante 16 horas livre de luz e em temperatura ambiente. A solução foi diluída em etanol até atingir a absorbâncias de 0,7 ± 0,02 a 734 nm em um leitor de placas multiscan (Tecan Infinite M200, Männedor, Suíça). Uma vez realizado esse procedimento, 15 μL de extrato e 285 μL de ABTS foram incubados durante 1 hora em escuro e a temperatura ambiente. A leitura foi realizada em absorbância 734 nm e os resultados foram expressos como atividade antioxidante equivalente de os resultados foram expressos em mg de Trolox por 100^{-1}g. Todos os extratos foram analisados em triplicata.

2.6. Analise estatística

O delineamento experimental utilizado foi um Fator (tratamento, considerado como os diferentes *smoothies*) submetido à análise de variância (ANOVA), utilizando software Statgraphics Plus (vs. 5.1, Statpoint Technologies Inc, Warrenton, EUA). A significância estatística foi avaliada a nível P = 0,05 e teste de Tukey para comparar as medias separadamente.

3. Resultados e discussão

Os *smoothies* podem ser considerados como exemplos típicos dos chamados superalimentos, definidos como um alimento considerado natural e benéfico devido ao seu perfil de nutrientes ou qualidades de proteção da saúde (Medina, 2011).

O *smoothie* 2 apresentou o maior teor de sólidos solúveis, independente da temperatura em que foi armazenado (Tabela 2). Em sua composição, houve uma maior variedade de vegetais, pois além de manga, fonte de compostos bioativos (β - caroteno, ácido ascórbico e compostos fenólicos), os quais lhe atribui uma elevada capacidade antioxidante (Dorta et al., 2012; Maisuthisakul & Gordon, 2009; Vergara-Valencia, 2007) e limão, que apresenta o maior potencial antioxidante entre frutas cítricas contribuindo para a prevenção de doenças cardiovasculares entre outras (Gorinstein et al., 2001), também continha uva, a qual possui uma grande quantidade de compostos fenólicos diferentes (Jackson, 1994) e gengibre, que pode atuar como agente anti-inflamatório (Grzanna et al., 2005) e prevenção do câncer (Shukla & Singh, 2007).

O teor de sólidos solúveis encontrados nos *smoothies* a base de manga variou de 13,10 e 15,47 °Brix, o que corrobora com os valores observados por Stan & Popa (2013) ao pesquisarem a correlação entre as características físico-químicas e sensoriais de 4 *smoothies* de frutas (pêssego e manga; laranja e maracujá; cereja e banana; banana e morango). De acordo com os autores, a preferencia do consumidor está em *smoothies* com teor de °Brix entre 13,2 e 15,2, semelhante ao encontrado em nosso estudo.

Durante o armazenamento de ambos *smoothies*, houve pouca alteração no pH, entre 3,35 a 3,62 (Tabela 2). Manter o pH baixo, menor que 4,5, é considerado como

um fator de preservação intrínseca, pois a maioria dos micro-organismos que podem degradar o produto são controlados (Keenan et al., 2011). Além disso, a pouca alteração durante o armazenamento refrigerado pode ser explicado pela capacidade tamponante dos sucos de frutas, podendo ocorrer variações na acidez titulável, sem variações significativas no pH (Chitarra & Chitarra, 1990) e segundo Gonçalves et al. (2006), essa capacidade tamponante se deve a presença de sais minerais e pectina.

O *smoothie* 1 apresentou pH mais ácido, durante todo o armazenamento. Geralmente a manga 'Palmer' apresenta pH em torno de 4,16 (Carvalho et al., 2004), e provavelmente o acido cítrico presente no limão pode ter contribuído para acidificar o *smoothie* 1.

A acidez titulável foi maior aos 7 dias de armazenamento independente da composição do batido e da temperatura armazenada, decrescendo no decorrer do armazenamento (Tabela 2). Como a manga é o componente predominante representando 90,9% e 62,4% na composição dos *smoothies* 1 e 2, respectivamente, esse fruto pode ter influenciado na acidez encontrada, pois estudos mostram que há alterações no teor de acidez titulável em manga, com diminuição durante o armazenamento refrigerado (Jeronimo & Kanesiro, 2000).

Trindade et al. (2015) observaram um valor médio inicial de 0,60 g 100 g^{-1} de ácido cítrico em manga 'Palmer' para a acidez titulável. Provavelmente, com a presença dos outros componentes ácidos nos *smoothies,* esse teor foi um pouco superior ao observado na manga individualmente.

Tabela 2. Caracterização físico-química de *smoothies* a base de manga 'Palmer' em armazenamento refrigerado.

Dias de Armazenamento	*Smoothie*	Temperatura de armazenamento (°C)	Solidos solúveis (°Brix)	pH	Acidez titulável (g de ácido cítrico 100 mL^{-1})	ΔE
0	1		$13,50±0,17^{Bab*}$	$3,49±0,11^{Aa}$	$0,83±0,12^{Aab}$	-
	2		$15,10±0,01^{Aab}$	$3,62±0,02^{Aa}$	$0,73±0,05^{Aa}$	-
4	1	5	$14,37±0,42^{Ca}$	$3,35±0,04^{Aa}$	$0,94±0,23^{Aa}$	$1,69±1,23^{Ba}$
	1	15	$14,60±0,10B^{Ca}$	$3,41±0,02^{Aa}$	$0,70±0,02^{Ac}$	$6,58±3,56^{Ba}$
	2	5	$15,17±0,32^{ABa}$	$3,44±0,02^{Ab}$	$0,72±0,05^{Aa}$	$17,22±0,41^{Ac}$
	2	15	$15,50±0,20^{Aa}$	$3,42±0,06^{Ab}$	$0,81±0,11^{Aa}$	$13,35±0,72^{Aa}$
7	1	5	$13,37±0,15^{Ba}$	$3,36±0,06^{Ba}$	$0,94±0,09^{Aa}$	$1,76±0,08^{Da}$
	1	15	$13,10±0,17^{Bc}$	$3,51±0,01^{Aa}$	$0,94±0,06^{Ab}$	$8,11±1,56^{Ca}$
	2	5	$15,47±0,15^{Aa}$	$3,52±0,03^{Aab}$	$0,99±0,03^{Aa}$	$20,18±0,43^{Aab}$
	2	15	$15,13±0,06^{Ab}$	$3,54±0,02^{Aa}$	$0,90±0,02^{Aa}$	$14,38±1,37^{Bb}$
11	1	5	$14,00±0,69^{Ba}$	$3,45±0,07^{Aa}$	$0,85±0,05^{Aa}$	$4,35±4,20^{Ba}$
	2	5	$15,17±0,06^{Aa}$	$3,51±0,05^{Aab}$	$0,85±0,26^{Aa}$	$20,33±0,78^{Aab}$
14	1	5	$14,23±0,55^{Ba}$	$3,44±0,16^{Aa}$	$0,78±0,10^{Aa}$	$4,61±1,07^{Aa}$
	2	5	$15,37±0,06^{Aa}$	$3,66±0,15^{Aa}$	$0,80±0,12^{Aa}$	$22,38±1,25^{Ba}$

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparam os tratamentos em cada dia de armazenamento) e minúscula (comparam cada tratamento durante o armazenamento) não diferem estatisticamente pelo teste Tukey (P≥0,05).

Um dos principais atributos sensoriais nos alimentos é a cor, pois na avaliação de um alimento, o impacto visual causado pela cor sobrepõe-se a todos os outros atributos, fazendo desse um dos mais importantes na comercialização de alimentos e constituindo, assim, primeiro critério de aceitação ou rejeição de um produto (Tocchini & Mercadante, 2001).

Nos produtos alimentares, a perda de cor ou escurecimento pode ocorrer devido a reações enzimática e/ou por condições de processamento (pH, acidez, oxidação, tempo e temperatura) (Rodrigo, Van Loey, & Hendrickx, 2007).

Na tabela 2, através do ΔE, observa-se um escurecimento de ambos *smoothies* durante o armazenamento. Esse escurecimento é mais pronunciado nos *smoothies* armazenados a 15°C e, principalmente, naquele que continha uva na composição. O escurecimento pode ser enzimático ou não. Entre os enzimáticos, uma enzima que pode promover o escurecimento é a polifenoloxidase, que catalisa a reação entre o oxigênio e um substrato fenólico catalisado (Ribeiro & Seravalli, 2007). A atividade desta enzima pode ser estimulada por temperaturas mais elevadas (Endo et al*.,* 2008).

O *smoothie* 1 possuía 9,2% de limão, enquanto o *smoothie* 2, 6,2%, o limão pode inativar ação enzimática devido a presença de ácido cítrico. Em batatas minimamente processadas, o uso do ácido cítrico foi eficiente na inibição do escurecimento enzimático pela acidez (Endo et al., 2008).

Em relação aos compostos bioativos, a manga é considerada importante fonte de fitoquímicos antioxidantes, dentre os quais se destacam os polifenóis, os carotenoides e a vitamina C (Melo et al., 2006).

Conteúdo fenólico pode aumentar ou diminuir em frutas e vegetais, dependendo das condições de armazenamento (Kalt, 2005). No entanto, atividade antioxidante em *smoothies* durante o armazenamento é pouco relatada (Agbenorhevi & Marshall, 2012).

O maior conteúdo de fenóis totais foi observado no *smoothie* 2 aos 11 dias de armazenamento (18,2 mg de acido gálico eq. 100^{-1}g de massa fresca) (Figura 1). O

conteúdo mais elevado de fenóis totais nesse batido pode ser devido à contribuição significativa de sua composição mais variada (Agbenorhevi & Marshall, 2012).

Entretanto, durante o armazenamento esse conteúdo não foi alterado significativamente. Cantos et al. (2000) também observaram pouca alteração no teor de compostos fenólicos de uva de mesa durante o armazenamento 0 ° C durante 10 dias seguido de 5 dias a 15 °C, na simulação de armazenamento típico e condições de comercialização.

A estabilidade dos polifenóis também pode ser influenciada pelo pH baixo (Kalt, 2005), no qual os *smoothies* se mantiveram durante o armazenamento, e as propriedades de polifenóis são grandemente afetadas pela sua interação com a matriz de alimentos, tais como na presença de açúcares e ácido ascórbico (Kaur & Kapoor, 2001; Cheynier, 2005).

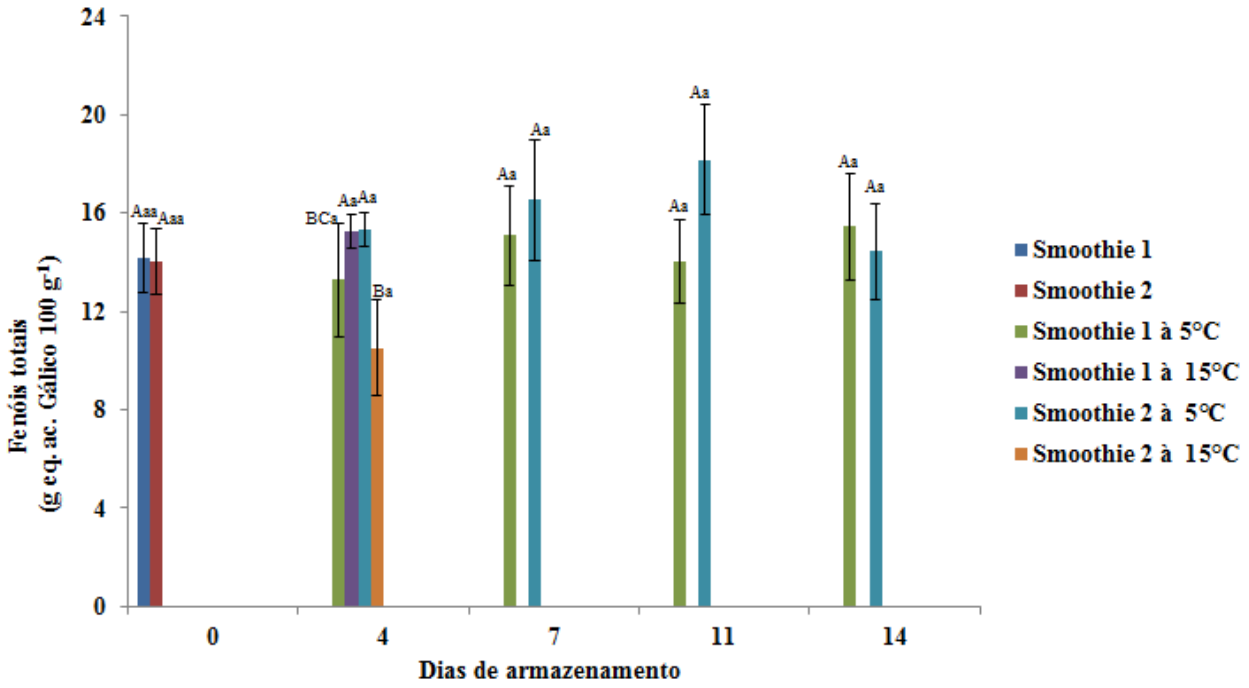


Figura 1. Fenóis totais em *smoothies* a base de mangas 'Palmer' armazenados. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparam os tratamentos em cada dia de armazenamento) e minúscula

(comparam cada tratamento durante o armazenamento) não diferem estatisticamente pelo teste Tukey (P≥0,05).

Muitos estudos frequentemente utilizam métodos como DPPH, para estimar as capacidades antioxidantes em frutas, vegetais e seus produtos (Thaipong et al., 2006). No geral, a atividade antioxidante apresentou pouca alteração durante o armazenamento (Figura 2). Esse efeito pode ser atribuído a pequena alteração dos compostos fenólicos, por serem preservados em pH baixo. Kedage et al. (2007) também observaram alta atividade antioxidante em cultivares de mangas processadas, variando de 0,23 a 1,64 μg ml $^{-1}$ de Trolox.

As maiores atividades antioxidantes nos *smoothies* determinadas através dos métodos de DPPH, FRAP e ABTS, foi observada aos 4 dias de armazenamento. Entretanto, durante os seguintes dias de armazenamento houve pouca diferença significativa para atividade antioxidante nos *smoothies*, variando de acordo com o método utilizado. A pequena diminuição da atividade antioxidante durante o armazenamento também pode ser devido à incorporação de oxigênio durante a homogeneização dos frutos para preparar as misturas. Durante esse processamento, as enzimas oxidativas intercelulares, como a polifenoloxidase entram em contato com os compostos antioxidantes, levando à degradação enzimática e oxidativa destes compostos (Keenan et al., 2011).

A atividade antioxidante mensurada pelo método de DPPH (figura 2a) apresentou diferença entre os *smoothies* nos tempos de armazenamento 4, 11 e 14. O *smoothie* 1 apresentou diminuição na atividade antioxidante ao fim do armazenamento, enquanto o *smoothie* 2, aumento. Shivashankara et al. (2004) observaram que a capacidade antioxidante de frutos foram mantidas durante o armazenamento a baixas temperaturas durante 20 dias.

Para a atividade antioxidante mensurada pelo método Frap (figura 2b) os *smoothies* apresentaram diferença apenas no dia 4, mantendo a capacidade antioxidante durante o armazenamento, sendo que o *smoothie* 2 apresentou uma tendência de aumento da atividade. Isto pode ser devido ao fato de sua composição apresentar maior variedade de componentes que apresentam características antioxidantes (manga, uva verde, gengibre e

limão). Por outro lado, quando a atividade antioxidante foi medida pelo método ABTS (figura 2c), houve uma diferença muito pronunciada também no dia 4 e ambos os batidos mostraram diminuição da atividade antioxidante durante o armazenamento.

Em mirtilo, Kalt et al. (1999) e Connor et al. (2002) também observaram pouca alteração na atividade antioxidante dos frutos quando armazenados a 5 °C durante 3 a 5 semanas e, tal fato, foi relacionado com a presença de polifenóis, incluindo as antocianinas. Como os compostos fenólicos estão relacionados com a atividade antioxidante, na figura 3 (a; b) observa-se a correlação entre os fenóis totais e a capacidade antioxidante dos *smoothies.*

A baixa correlação para os *smoothies* analisados baseia-se no pressuposto de que possa existir uma baixa interação entre capacidade antioxidante e a quantidade de polifenóis nas composições complexas de frutas (Müller et al., 2010).

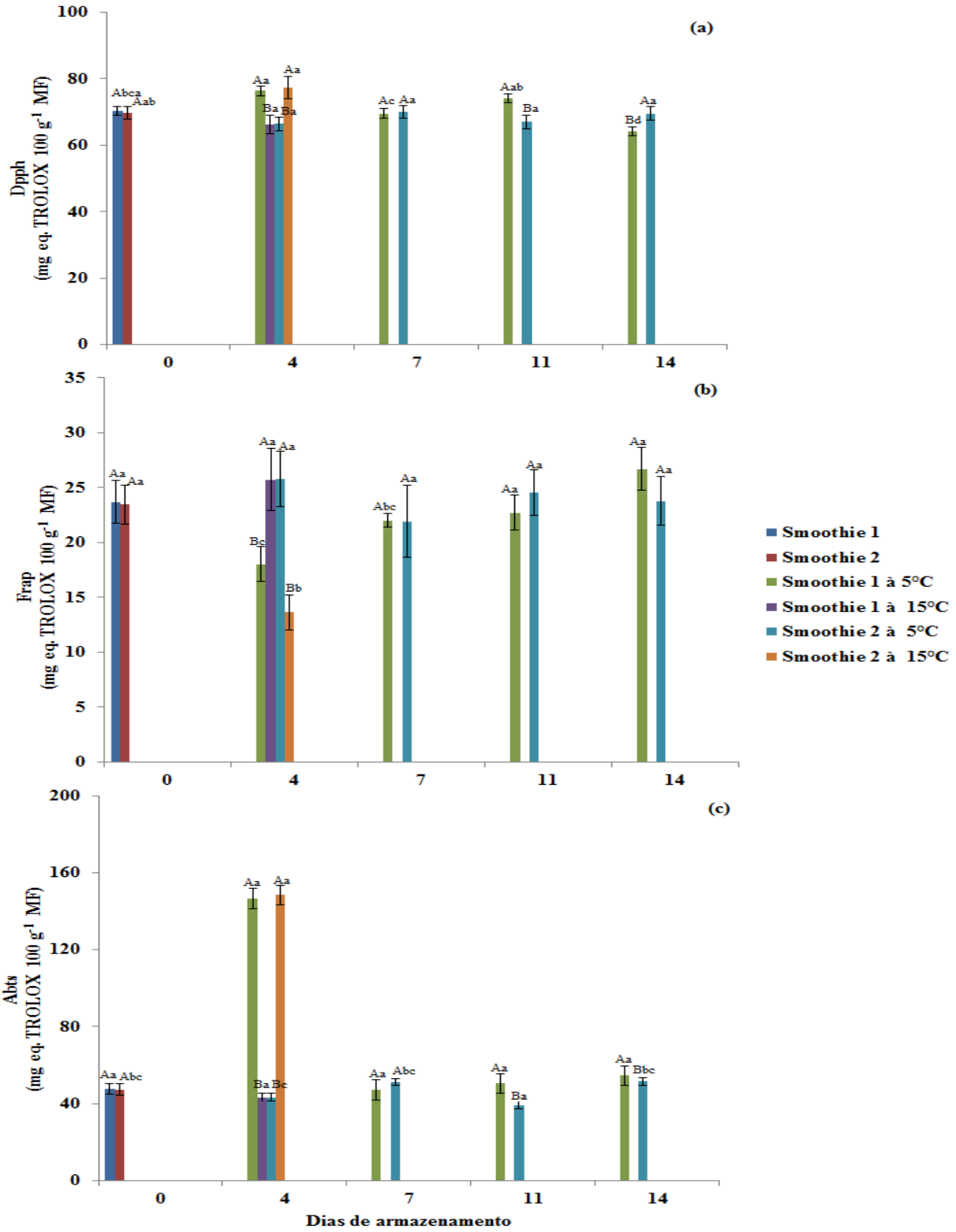


Figura 2. Capacidade antioxidante em *smoothies* a base de manga determinada através do Dpph (a), Frap (b) e Abts. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparam os tratamentos em

cada dia de armazenamento) e minúscula (comparam cada tratamento durante o armazenamento) não diferem estatisticamente pelo teste Tukey (P≥0,05).

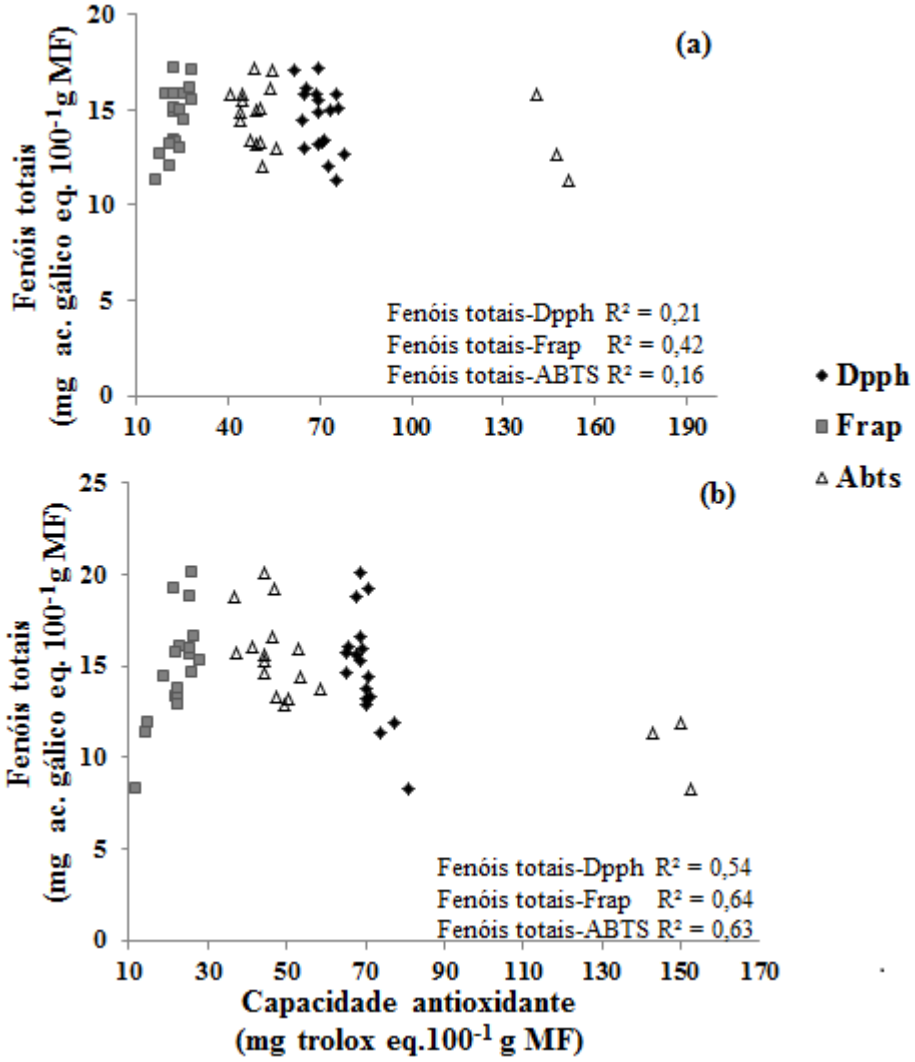


Figura 3. Correlação entre os fenóis totais e capacidade antioxidante no *smoothie* 1 (a) e 2 (b).

Como os *smoothies* foram submetidos apenas à higienização e sanitização dos produtos durante o preparo, o controle de crescimento microbiológicos foi realizado através do pH acido e temperatura de armazenamento. Os *smoothies* armazenados a 15°C apresentaram vida útil de 4 dias, pois aos 7 dias já não estavam apropriados para o consumo por apresentaram características de fermentação. Vegara et al. (2014) afirmam que o

aumento da acidez em sucos armazenados (especialmente por surgimento de ácido acético ou lático) é um indicador de contaminação por leveduras e/ou bactérias.

Na figura 4 (a, b, c) pode-se observar a evolução do crescimento de mesófilos, psicrófilos, fungos e leveduras, respectivamente. A carga microbiana apresentou tendência de aumento durante o armazenamento, impropriando, assim, o consumo a partir de 14 dias armazenados a 5°C, mesmo apresentando características sensoriais aceitáveis (Figura 5 a, b).

De acordo com a portaria n°451, de 19 de setembro de 1997, o Ministério da Saúde, regulamenta os padrões microbiológicos para polpas e produtos de frutas entre outros, nos quais os valores máximos permitidos de fungos e leveduras estão entre 10^2 e 10^4 UFC ml^{-1}, portanto os ambos *smoothies* estão de acordo com a legislação brasileira, exceto na contagem realizada aos 11 dias (Figura 4 c). Ainda nessa portaria, não são estabelecidos padrões microbiológicos para produtos a base de frutas em relação à contagem de mesófilos e psicrófilos.

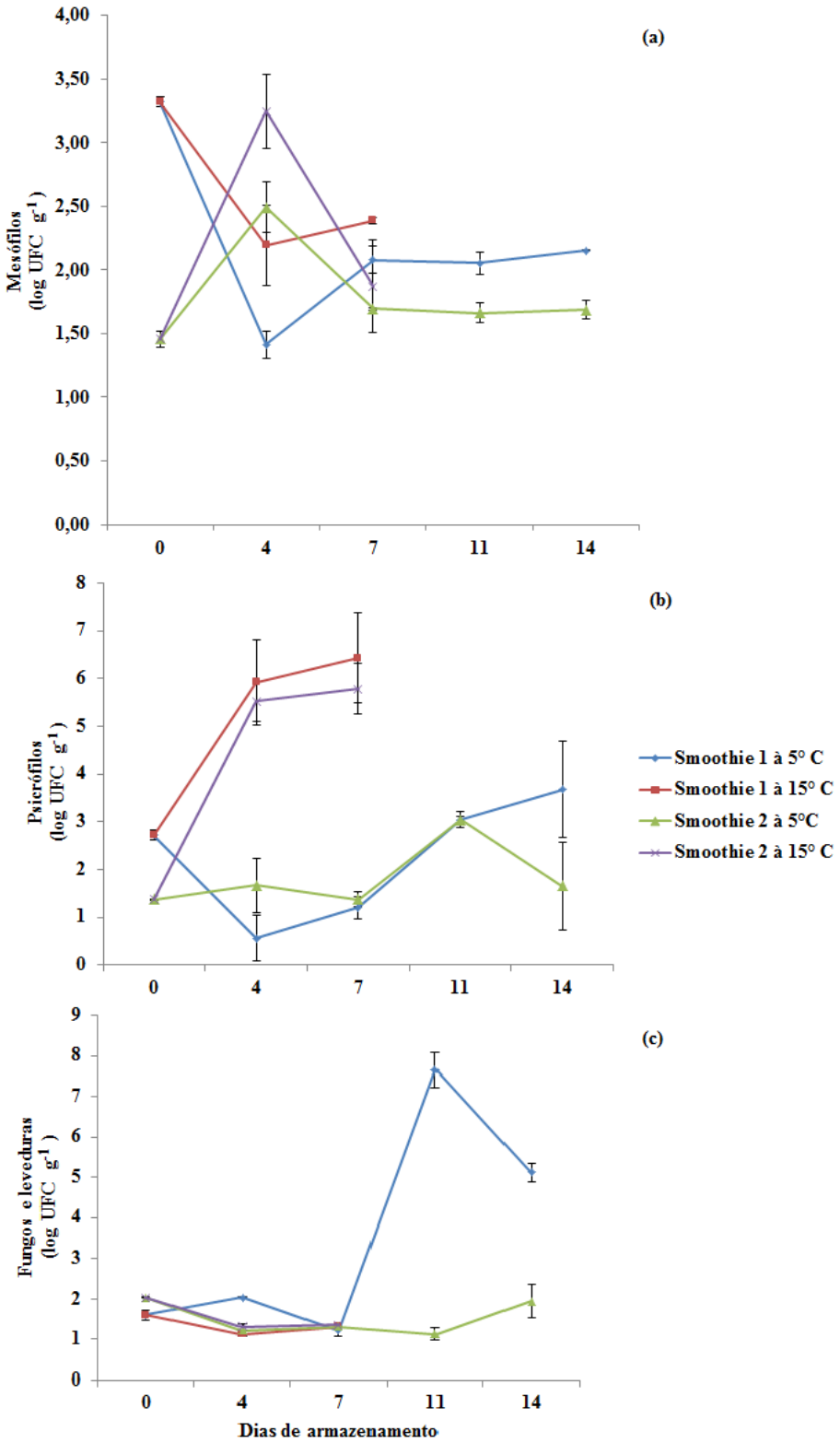


Figura 4. Crescimento microbiológico (mesófilos - a; psicrófilos – b; e fungos e leveduras - c) em *smoothies* a base de manga 'Palmer' durante armazenamento refrigerado.

O *smoothie* 1 preservou melhor suas características visuais e apresentou melhor aceitabilidade global (Figura 5 a, b). Ambos *smoothies* são aceitáveis para consumo de acordo com a análise sensorial realizada, principalmente pela predominância da manga, um valioso dietético e fonte de muitos fitoquímicos, que atribuem à cor e o sabor característico (Grundhofer et al., 2001; Haard & Chism, 1996).

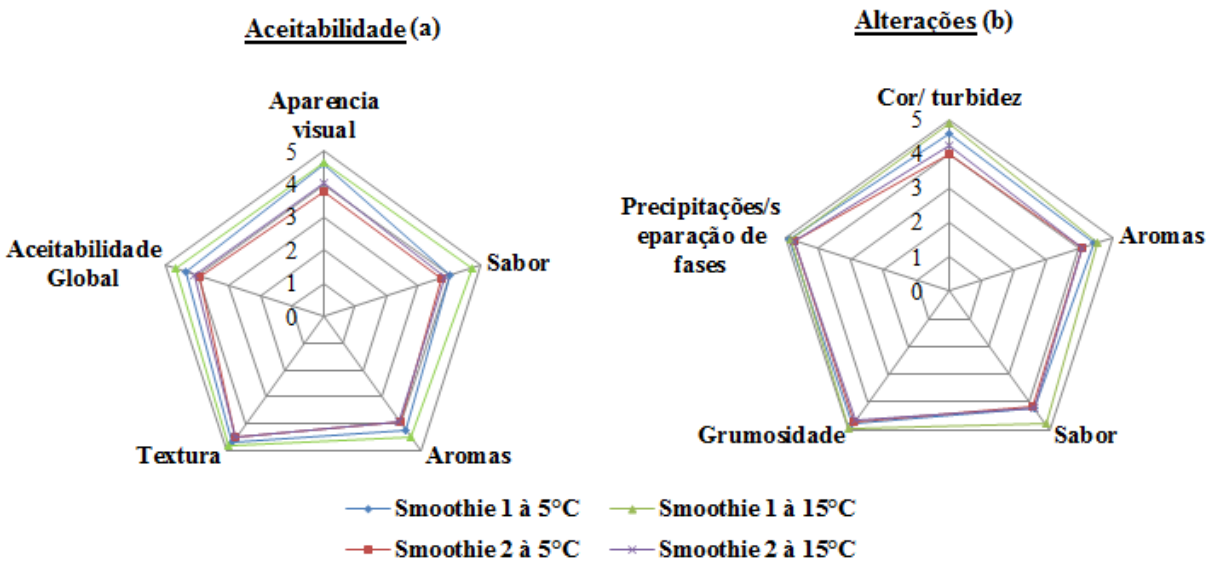


Figura 5. Avaliação sensorial de *smoothies* a base de manga 'Palmer' submetida ao armazenamento refrigerado.

4. Conclusão

Os *smoothies* a base de manga são uma excelente opção para estimular o consumo de frutas, pois além de preservar suas caraterísticas organolépticas, também preserva a capacidade antioxidante, trazendo muitos benefícios a saúde.

5. Referências

Agbenorhevi, J. K., & Marshall, L. J. (2012). Investigation into the total phenols and antioxidant activity during storage of fruit smoothies. Journal of Food Science and Engineering, 2, 72-79.

Aoac. (1984). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14th ed. Washington, DC.

Astm. (1986). Physical Requirements Guidelines for Sensory Evaluation Laboratories. J. Eggert and K. Zook, Eds. ASTM Special Technical Pub. 913. American Society for Testing Materials, Philadelphia, PA.

Barrett, D.M., & Lloyd, B. (2012). Advanced preservation methods and nutrient retention in fruits and vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92, 7-22.

Benzie, I. & Strain, J. (1999). The ferric reducing abitity of plasma (FRAP) as a mesure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239, 70-75.

Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Koroke, A., et al. (2007). Obst und gemüse in der prävention chronischer krankheiten. Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e. V.2-43.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 28, 25-30.

Cantos, E., García-Viguera, C., Pascual-Teresa, S., Tomas-Barberan, T.A. (2000). Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 4606–4612.

Cagno, R., Minervini, G., Rizzello, C.G., Angelis, M., & Gobbetti, M. (2011). Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. Food Microbiology, 28, 1062-1071.

Carvalho, C.R.L., Rosseto, C.J., Mantovani, D.M.B., Morgano, M.A., Castro, J.V.C. & Bortoletto, N.(2004). Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo Instituto Agronômico de Campinas comparadas a outras de importância comercial. Revista Brasileira de Fruticultura, 26 (2), 264-271.

Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. The American Journal of Clinical Nutrition, 81, 223-229.

Chitarra, M.I.F. & Chitarrra, A.B. (1990). Pós-colheita de frutos e hortaliças fisiologia e manuseio. Lavras-MG: ESAL FAEP, 289.

Connor, A.M., Luby, J.J., Hancock, J.F., Berkheimer, S. & Hanson, E. J. (2010). Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 893-898.

Dorta, E., Lobo, M. G., & González, M. (2012). Using drying treatments to stabilize mango peel and seed: effect on antioxidant activity. LWT- Food Science & Technology, 45, 261-268.

Endo, E., Soares, N.F.F., Santos, D.A.A., Borges, S.V. Fontes, E.A.F. & Gonçalves, M.P.J.C.(2008). Uso de filmes ativos na conservação da batata minimamente processada. Semina: Ciências Agrárias, 19 (2), 349-360.

Falguera, V., Aliguer, N., & Falguera, M. (2012). An integrated approach to current trends in food consumption: moving toward functional and organic products? Food Control, 26, 274-281.

Gonçalves, C.A.A., Lima, L.C.O., Lopes, P.S.N. & Prado, M.E.T. (2006). Caracterização física, físicoquímica, enzimática e de parede celular em diferentes estádios de desenvolvimento da fruta de figueira. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 26(1), 220-229.

Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., C$!ım, M., Caspi, A., Libman, I., & Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. Food Chemistry, 74, 309–315.

Grundhofer, P., NIEMETZ, R., Schilling, G., & Gross, G. G. (2001). Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolysable tannins. Phytochemistry, 57, 915–927.

Grzanna, R., Lindmark, L. & Frondoza, C.G .(2005). Ginger – an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. Journal of Medicinal Food, 8, 125–132.

Haard, N.F., & Chism, G.W. (1996). Characteristics of edible plant tissues. In O. R. Fennema (Ed.), Food Chemistry (3rd ed.,943–1011). New York: Marcel Dekker, Inc.

ISO 8586-1 .(1993). Sensory analysis - General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part 1: Selected assessors. International Organization of Standardization. Genève; NP ISO 8586-1 (2001) Análise sensorial. Guia geral para a seleção, treino e controle dos provadores. Parte 1: Provadores qualificados. CT - 114 Ed. 1. IPQ, Caparica.

Jackson, R.S. (1994). Wine science: principles and applications. Academic Press, New York, 474.

Jerônimo, E.M. & Kanesiro, M.A.B. (2000). Efeito da associação de armazenamento sob refrigeração e atmosfera modificada na qualidade de mangas 'Palmer'. Revista Brasileira de Fruticultura, 22 (2), 237-243.

Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A. & Prior, R. L. (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 4638- 4644.

Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruits and vegetable antioxidants. Journal of Food Science, 70, 11-19.

Kaur, C. & Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables–the millenium's health, International Journal of Food Science & Technology, 36, 703-725.

Kedage, V.V., Tilak, J.C., Dixit, G.B., Devasagayam, T.P.A. & Mhatre, M. (2007). A Study of Antioxidant Properties of Some Varieties of Grapes (*Vitis vinifera* L.). Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47(2), 175-185.

Keenan, D. F., Brunton, N., Gormley, R. & Butler, F. (2011) Effects of thermal and high hydrostatic pressure processing and storage on the content of polyphenols and some quality attributes of fruit smoothies. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 601–607.

Layman, D. K. (2014). Eating patterns, diet quality and energy balance: a perspective about applications and future directions for the food industry. Physiology & Behavior, 134, 126 - 130.

Maisuthisakul, P., & Gordon, M. H. (2009). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. Food Chemistry, 117, 332-341.

Medina, M. B. (2011). Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. Journal of Functional Foods, 3, 79-87.

Melo, E.A., Lima, V.L.A.G., Maciel, M.I.S., Caetano, A.C.S. & Leal, F.L.L. (2006). Polyphenol, Ascorbic acid and total carotenoid contents in common fruits and vegetables. Brazilian Journal of Food Technology, 9 (2), 89-94.

Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A.M., Bohm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT - Food Science and Technology, 43, 992–999.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & RICE-EVANS, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26, 1231–1237.

Ribeiro, E.P. & Seravalli, E.A.G. (2007) Química de alimentos. 2 ed. SP: Edgard Bllucher.

Rodrigo, D., van Loey, A., & Hendrickx, M. (2007). Combined thermal and high pressure colour degradation of tomato puree and strawberry juice. Journal of Food Engineering, 79, 55-560.

Shivashankara, K.S., Isobe, S., Al-Haq, M. I. , Akenaka, M. & Shiina, T.(2004). Fruit Antioxidant Activity, Ascorbic Acid, Total Phenol, Quercetin, and Carotene of Irwin Mango Fruits Stored at Low Temperature after High Electric Field Pretreatment. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 1281−1286.

Shukla, Y. & Singh, M. (2007). Cancer preventive properties of ginger: a brief review. Food and Chemical Toxicology, 45, 683–690.

Singleton, V.L. & Rossi Jr, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybidic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16,144-158.

Spormann, T. M., Albert, F.W., Rath, T., Dietrich, H., Will, F., Stockis, J. P., et al. (2008). Anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative cell damage in an intervention study with patients on hemodialysis. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 17(12), 3372–3380.

Stan, A. & Popa, M. E. (2013) Research on the correlation between physico-chemical, sensory analysis of smoothie type products and consumer preferences . Scientific Bulletin Biotechnology: Series F, 8, 193-197.

Tavarini, S., Degl'innocenti, E., Remorini, D., Massai, R., & Guidi, L. (2008). Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwi fruit. Food Chemistry, 107,282–288.

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. & Byrne, D.H. (2006) Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis, 9, 669-675.

Trindade, D.C.G., Lima, M.A.C. & Assis, J.S. (2015) 1-methylcyclopropene action on postharvest conservation of 'Palmer' mango fruit at different maturity stages. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 50(9), 753-762.

Tocchini, L. & Mercadante, A.Z. (2001). Extração e determinação, por CLAE, de Bixina e Norbixina em colorífícos. Ciência e Tecnologia dos Alimentos, 21, 310-313.

Vegara, S., Marti, N., Lorente, J., Coll, L., Streitenberger, S., Valero, M. & Saura, D. (2014). Chemical Guide Parameters for *Punica granatum* cv. 'Mollar' Fruit Juices Processed at Industrial Scale. Food Chemistry, 147, 203-8.

Vergara-Valencia, N., Granados-Pérez, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Ruales, J., & Bello-Pérez, L. A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: characterization, associated

antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. LWT - Food Science & Technology, 40, 722-729.
Watzl, B. (2008). Smoothies – wellness aus der flasche? Ernährungsumschau, 6, 352–353.

_____. Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997. Princípios gerais para estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 1997. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/451_97.htm>. Acesso em: 4 out. 2015.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A manga 'Palmer' é uma fruta rica em compostos bioativos que podem ser incrementados a partir da sanitização com água ozonizada.

A água ozonizada é uma excelente opção para substituir o cloro durante os processos de sanitização, pois além de ser um eficiente sanitizante não deixam resíduos, podendo, assim, ser utilizado em produtos orgânicos.

Os frutos senescentes apresentam alto potencial antioxidante, devido aos elevados níveis de compostos bioativos, tais como β-caroteno. Tal fato leva ao estimulo a pesquisas que objetivem seus usos e aplicações.

Os *smoothies* de frutas e hortaliças apresentam alto potencial antioxidante, além estimular o consumo de vegetais, pois a combinação de sabores e aroma agradável é bastante atrativa ao consumidor.

CONCLUSÕES

O presente estudo evidencia que a água ozonizada pode ser utilizada, substituindo o cloro, na sanitização de frutos, pois ao longo do armazenamento houveram alterações nos níveis dos compostos bioativos e na atividade antioxidante sem prejudicar as mangas 'Palmer', pelo contrario incrementando a qualidade destas.

Em relação ao sistema de cultivo, os frutos provenientes de cultivo orgânico apresentaram as melhores características químicas e bioquímicas.

Entretanto, ainda há a necessidade de mais estudos que mostrem os efeitos do ozônio nas diferentes espécies vegetais, para encontrar alternativas para aproveitar os compostos bioativos em frutos senescentes e inapropriados para o consumo *in natura*.

Os *smoothies* podem ser uma excelente opção para estimular o consumo de frutas além de conservar a capacidade antioxidante durante o armazenamento.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C. O. de; CARDOSO, C. E. L.; SANTANA, M. do A. Comercialização. In: PEREIRA, M. E. C.; FONSECA, N.; SOUZA, F. V. D. (Ed.). **Manga: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. cap. 15, p. 177-184. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas).

BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health**. Trends Food Science Technology**, Norwich, v. 6, p. 341-346, oct.,1995.

BAUR, S.; KLAIBER, R.; HAMMES, W. P.; CARLE, R. Sensory and microbiological quality of shredded package iceberg lettuce as affected by pre-washing procedures with chlorinated and ozonated water. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Wageningen, v.5, n. 1, p.45-55, mar., 2004.

BELTRÁN, D., SELMA, M. V., MARIN, A., GIL, M. I. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** Davis, v.53, p. 5654–5663, jun.,2005.

BORGUINI, R.G; TORRES, E.A.F.S. Alimentos orgânicos: qualidade nutritiva e segurança do alimento. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 64-75, 2006.

BRANDÃO, M. C. C. et al. Análise físico-química, microbiológica e sensorial de frutos de manga submetidos à desidratação osmótico-solar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 38-41, Apr., 2003.

COSTA, J.G.; SANTOS, C.A.F. Cultivo da Mangueira-Sistemas de Produção. 2004. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira/cultivares.htm> Acesso em: 18/07/2014.

CROWE, K. M., BUSHWAY, A. A., BUSHWAY, R. J., DAVIS-DENTICI, K., HAZEN, R. A. A comparison of single oxidants versus advanced oxidation processes as chlorine-alternatives for wild blueberry processing (*Vaccinium angustifolium*). **International Journal Food Microbiology**, Amsterdam v. 116, p.25–31, may, 2007.

CRUZ, M. J. S. et al. Efeito dos compostos naturais bioativos na conservação pós-colheita de frutos de mangueira cv. Tommy Atkins. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v.34, n.2, p.428-433, 2010.

FORNEY, C. F. (2003). **Postharvest response of horticultural products to ozone**. In: Postharvest Oxidative Stress in Horticultural Crops, pp. 13–54. Hodges, D. M., Ed., Food Products Press, New York.

GLÓRIA, M. B. A.; TAVARES-NETO, J.; LABANCA, R. A.; CARVALHO, M. S. Influence of cultivar and germination on bioactive amines in soybeans (*Glycine max* L. Marril). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis,v. 53, p. 7480-7485, sep., 2005.

GOMES,P. **Fruticultura brasileira**. 2010. Disponível em: <http://www.bibvirt.futuro.usp.br>. Acesso em: 16 jun. 2014.

GRAHAM, D. M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, Chicago, v. 51, p. 72–75, 1997.

GUZEL-SEYDIM, Z.; GREENE, K. A.; BEVER, P. Use of ozone in food industry. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. **Food Science and Technology**, Zurich, v. 37, n. 4, p. 453-460, 2004.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoids researches since 1992.

Phytochemistry, Netherlands, v. 55, p. 481-504, 2000.

HORVITZ, S.; CANTALEJO, M. J. Application of Ozone for the Postharvest Treatment of Fruits and Vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 54, n.3, p. 312-339, 2014.

KARACA, H.,VELIOGLU, Y. S. Ozone applications in fruit and vegetable processing. **Food Reviews International**, New York, v. 23, p. 91–106, 2007.

KARACA, H. Use of ozone in the citrus industry. **Ozone: Science & Engineering**, Dallas, v. 32, p. 122–129, 2010.

KEENAN, D.F., RÖßLE, C., GORMLEY, R., BUTLER, F., BRUNTON, N.P. Effect of high hydrostatic pressure and thermal processing on the nutritional quality and enzyme activity of fruit smoothies. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 45, p. 50-57, 2012.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; KHADRE, M. A. Ozone and its current and future application in the food industry. **Advances in Food and Nutrition Research**, San Diego, v.45, p.167-218, 2003.

LARQUÉ, E. et al. Biological significance of dietary polyamines. **Nutrition**, Syracuse, v. 23, n. 1, p. 87-95, 2007.

LEITE, G. A.; CARVALHO, C. A. C; FREITAS, W. E. S.; DANTAS, J. I. A.; PONTES, C. A.; FERNADES, P. L. O. A ação das poliaminas na maturação e senescência de frutos. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 8, n. 4, p.08-21, 2012.

LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A.S. Flavonóides. **Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**, Brasilia, v. 3, n. 14, p.18-22, 2003.

LOZOWICKA, B. JANKOWSKA, M. KACZYNSKI, P. Pesticide residues in Brassica vegetables and exposure assessment of consumers. **Food Control**, Netherlands, n. 25, p. 561-575, 2012.

MCGLYNN, W. Guidelines for the Use of chlorine bleach as a sanitizer in food processing operations: FAPC – 116. Stillwater: Okalahoma State University, 2004.

MARCHIORI, J.M.G. **Qualidade nutricional dos queijos mussarela orgânico e convencional elaborados com leite de búfala e de vaca**. 2006. 54f. Dissertação (Mestrado em Ciências Nutricionais). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; MACIEL, M. I. S.; CAETANO, A. C. S.; LEAL, F. L. L. Polyphenol, Ascorbic acid and total carotenoid contents in common fruits and vegetables. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 9, n. 2, p. 89-94, 2006.

MENDONÇA, V. et al. Utilização do paclobutrazol, ethephon e nitrato de potássio na indução floral da mangueira no semi- árido nordestino. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.6, p.1285-1292, nov./dec. 2003.

MENTEN, M. M. Clima favorece a mangicultura em 2010. **Hortifruit Brasil**, São Paulo, p. 42-43, 2010.

MOINARD, C.; CYNOBER, l.; BANDIT, J.P. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. **Clinical Nutrition**, v. 24, n. 2, p. 184-187, apr., 2005.

OEY, I., VAN DER PLANCKEN, I., VAN LOEY, A., HENDRICKX, M. Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems? **Trends in Food Science and Technology**, London, v.19, n. 6, p. 300−308, 2008.

QIAN, N. **Fruit and vegetable smoothies, and its processing method**. Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu. CN 1817192, 2006.

RIBEIRO, S. M. R.. **Caracterização e avaliação do potencial antioxidante de mangas (*Mangifera indica* L.) cultivadas no Estado de Minas Gerais**. 2006. 166f. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

RICE, R. G., FARQUHAR, J. W. , BOLLYKY, L. J. Review of the applications of ozone for increasing storage times of perishables foods. **Ozone: Science & Engineering**, Dallas, v. 4, p. 147–163, 1982.

RODGERS, S. L.; CASH, J. N.; SIDDIQ, M.; RYSER, E. T. A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 667, p.721-731, 2004.

SCALISE, C.; RESENDE, F. B.; MIACHON, L.; CORTES, R. T.; TELEZE, R. **Indução floral em Mangueira (*Mangifera indica* L.).** São Paulo: Notesalq. 2009, 28p.

SELMA, M. V., IBÁÑEZ, A. M., CANTWELL, M., SUSLOW, T. Reduction by gaseous ozone of *Salmonella* and microbial flora associated with fresh-cut cantaloupe. **Food Microbiology,** Illinois, v. 25, p. 558–565, jun., 2008.

TEIXEIRA, G. H. de A.; DURIGAN, J. F. Storage of 'Palmer' mangoes in low-oxygen atmospheres. **Fruits**, Paris, v. 66, p. 279-289, 2011.

VAROQUAUX, P. **Overview of the fresh-cut process in France**. In: Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças, 4, 2006. Piracicaba. Palestra... Piracicaba: ESALQ, p.72-76, 2006.

XU, L. Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. **Food Technology**. Chicago, v. 53, n. 10, p. 58–61, 1999.