

ALTERAÇÕES DA ATIVIDADE DA POLIGALACTURONASE E PECTINAMETILESTERASE EM AMORA-PRETA (*Rubus* spp.) DURANTE O ARMAZENAMENTO

POLIGALACTURONASE AND PECTINAMETILESTERASE ALTERATIONS ON FRUITS OF BLACKBERRIES (*Rubus* spp.) POSTHARVEST

Luis Eduardo Corrêa Antunes¹; Emerson Dias Gonçalves²; Renato Trevisan²

RESUMO

O conhecimento da fisiologia pós-colheita de um fruto é de grande importância para que se tenha subsídio técnico que vise à ampliação do tempo de armazenamento, sem alteração de qualidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade enzimática da poligalacturonase (PG) e da pectinametilesterase (PME) em frutos de amoreira-preta (*Rubus* spp.) mantidas sob diferentes ambientes e períodos de armazenamento. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições e 18 frutos por parcela, em esquema fatorial 2 x 2 x 5 (cultivares Brazos e Comanche; ambientes a 2°C e a 20 ± 2°C e períodos de armazenamento de 0, 3, 6, 9 e 12 dias). A atividade de PME aumentou com o aumento do período de armazenamento, independente da cultivar e do meio de conservação, enquanto a atividade da PG decresceu com o aumento do período de armazenamento.

Palavras-chave: *Rubus* spp., pequenos frutos, refrigeração, vida de prateleira.

ABSTRACT

The understanding of the physiological postharvest process of fruit is very important to better preserve fruits for longer periods without altering its qualities. This study aimed to evaluate the behavior of enzymatic process poligalacturonase (PG) and pectinametilesterase (PME) of blackberry fruits kept under different environmental and storage period. A randomized block design in a 2x2x5 (cultivars: Brazos and Comanche; environmental conditions: cold room at 2 °C and room temperature at 20 ± 2 °C; storage period: 0, 3, 6, 9 and 12 days) factorial scheme was used. PME activity increased while PG activity decreased with high storage time, independent of the cultivar and environment.

Key words: *Rubus* spp., small fruits, refrigeration, shelf life.

INTRODUÇÃO

O cultivo da amora-preta é recente no Brasil, sendo os primeiros acessos introduzidos, em 1974, pela Embrapa Clima Temperado (ANTUNES, 2002). Atualmente, a cultura encontra-se difundida em Estados do Sul e Sudeste, ocupando o segundo lugar dentre as pequenas frutas, com produção de 1.300 toneladas e área cultivada de 110 hectares (PAGOT & HOFFMANN, 2003).

Por ser um fruto frágil a amora-preta possui vida pós-colheita relativamente curta. A qualidade dos frutos está relacionada à minimização da taxa de deterioração, manutenção das características normais do produto como textura, cor, sabor e aroma, de forma a mantê-los atraentes ao consumidor pelo maior tempo possível (LIMA et al., 1996).

Quando um fruto é colhido, ele continua a respirar e passa por uma série de transformações endógenas resultantes do metabolismo, que se refletem em várias mudanças nas suas características (ABREU et al., 1998). A maturação da amora-preta pode ser determinada pela cor de superfície do fruto, bagas completamente pretas; firmeza, teor de sólidos solúveis, acidez titulável e aroma característico (COUTINHO et al., 2004)

MORRIS et al. (1981) mencionam que, devido a estrutura frágil e alta taxa respiratória de frutas de amoreira-preta, sua vida pós-colheita é relativamente curta, o que também é corroborado por Hardenburg et al. (1986), citados por PERKINS-VEAZIE et al. (1997). Estes mesmos autores citam CLARK (1992) quando relatam que a firmeza do fruto colhido influencia na vida de prateleira, haja visto que estes podem ser facilmente danificados no manuseio facilitando a infecção por patógenos.

Segundo Hardenburg et al. (1986), citados por PERKINS-VEAZIE et al. (1997) e PERKINS-VEAZIE et al. (1993) a recomendação usual de armazenamento para amoreira-preta é de 2 a 3 dias quando mantidas a 0°C. Contudo, estes mesmos autores citam que CLARK & MOORE (1990), trabalhando com cultivares eretas de amoreira-preta, mantiveram os frutos com qualidade durante 7 dias à temperatura de 5°C. ANTUNES et al. (2003) verificaram que para 'Brazos' e 'Comanche', mantidas em ambiente refrigerado (2°C), mantem com qualidade por até nove dias de armazenamento.

As substâncias pécticas são os principais componentes químicos dos tecidos responsáveis pelas mudanças de textura das frutas e hortaliças. Quando os grupos carboxílicos ácidos encontram-se ligados ao cálcio, formam o pectato de cálcio, que é insolúvel e também designado como protopectina, predominante em frutos imaturos. Com o amadurecimento, há liberação de cálcio e solubilização de protopectina das paredes celulares, possivelmente por ação enzimática. Há então modificação da textura, que se torna gradualmente macia. Essas transformações ocorrem não só durante o amadurecimento, como também no armazenamento de frutas e algumas hortaliças. As pectinas em frutas encontram-se sob diferentes formas, caracterizadas por diferentes solubilidades. A protopectina é uma forma insolúvel em água e que, por hidrólise parcial, produz ácidos pectínicos ou ácidos pécticos também chamados de pectinas solúveis (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

A degradação de protopectina na lamela média e da parede celular primária, o aumento da pectina solúvel e perda de açúcares neutros não celulósicos, relatados durante o

¹ Eng. Agr., Embrapa – Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, Caixa Postal 403, CEP 96001-970 Pelotas, RS. Bolsista CNPq. E-mail: antunes@cpart.embrapa.br

² Eng. Agr., Embrapa – Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, Caixa Postal 403, CEP 96001-970 Pelotas, RS. Bolsista CNPq/RD. E-mail: emersondng@hotmail.com

amadurecimento dos frutos, têm sido sugerido como causas principais da perda de textura (CAMARGO et al., 2000). As substâncias pectínicas são polissacarídeos ácidos de elevados pesos moleculares, constituídos por unidades de ácido D-galacturônico que ocorrem praticamente em todas as plantas superiores, nas quais encontram-se principalmente sob a forma de protopectinas na lamela média e na membrana celular. Nos frutos, encontram-se nos espaços intercelulares, estando presentes em grande parte nos frutos verde na forma de protopectinas (Wosiack, 1971, citado por PIMENTA et al., 2000).

A degradação de polissacarídeo pectínicos é uma das principais causas do processo de amaciamento dos frutos. Estão envolvidos na modificação da textura de frutos dois principais processos enzimáticos, cuja ação é devida a poligalacturonase (PG) e a pectinametilsterase (PME) (ANTHON et al., 2002). A decomposição das moléculas poliméricas, como protopectinas, celuloses, hemiceluloses e amido amaciam as paredes celulares, pois diminuem a força coesiva que mantém as células unidas (CHITARRA & CHITARRA, 1990). A atuação da PME desmetilando as pectinas se faz necessária uma vez que a PG se torna inativa na presença de grupos metílicos.

A atividade de PME é maior em grãos verdes, diminuindo à medida que o grão amadurece e seca na planta. Já a secagem dos frutos na planta promove aumento da porcentagem de pectina solúvel, aumenta atividade de PG e diminui PME. A PG que é encontrada na maioria dos frutos, catalisa a hidrólise das ligações β 1,4 entre resíduos de ácido galacturônico no interior da cadeia de pectina. Essa enzima é classificada em dois grupos com base na sua ação sobre o substrato, uma com típico rompimento aleatório das ligações glicosídicas, chamada endo-PG, e outra com rompimento terminal, exo-PG (Konno et al., 1983, citados por EVANGELISTA et al., 2000).

A PME deve preceder a atividade da PG, no sentido de facilitar a atividade desta última, pela desmetilação dos poliuronídeos. A PG teria maior afinidade pelo substrato linear, desmetilado, após a atuação da PME (ANTHON et al., 2002; BICALHO et al., 2000). Na maioria dos frutos a atividade da PG aumenta durante o amadurecimento concomitantemente com um aumento na maciez do fruto e a solubilização de poliuronídeos da parede (Hobson 1981; Knee & Barthey, 1981; Huber, 1983, citados por BICALHO et al., 2000).

Este trabalho objetivou avaliar a atividade da PME e PG em frutos de amoreira-preta, em pós-colheita, sob diferentes ambientes e períodos de conservação.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Análises de Produtos de Origem Vegetal da Fazenda Experimental da EPAMIG, em Caldas (FECD), e as análises químicas realizadas no Departamento de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

As amoras foram colhidas pela manhã, diretamente em bandejas de plástico transparente, semelhante a utilizada para morango, num total de 18 frutos por bandeja, sendo posteriormente levadas ao laboratório e pesadas. Em seguida, as "cumbucas" eram envoltas com filme de cloreto de polivinila

(PVC) de 20 μ , e colocadas nos ambientes de estudo. Os frutos utilizados neste trabalho não sofreram nenhum tratamento prévio.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições e 18 frutos por parcela. Utilizou-se um esquema fatorial 2 x 2 x 5 (cultivares: Brazos e Comanche; ambiente: 2 °C em geladeira e temperatura ambiente em laboratório (20°C \pm 2 °C); período de armazenamento: 0, 3, 6, 9 e 12 dias).

Foram avaliadas as características atividade de pectinametilsterase (PME) e poligalacturonase (PG) segundo Pressey & Avants (1973), Jen & Robison (1984) citados por LIMA et al. (1996). Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da PME aumentou linearmente com o aumento do período de armazenamento, para as duas cultivares (Figura 1), sendo que 'Comanche' apresentou atividade enzimática maior que 'Brazos' durante todo o período de armazenamento (Figura 2). Não houve interação entre ambiente e cultivar; entretanto, observou-se uma maior atividade desta enzima ao final do período de armazenamento, na temperatura ambiente do que a 2 °C.

Já para PG, ocorreu aumento inicial da atividade até o sexto dia, para 'Brazos', decrescendo a partir daí até o 12º dia de armazenamento (Figura 3). Por outro lado, para 'Comanche', a atividade foi menor que 'Brazos', independente do ambiente. A menor atividade desta enzima foi observada em temperatura ambiente para 'Comanche' (Tabela 1).

A atividade da PG sofreu acréscimo, a 2°C, até o 6º dia, decrescendo a partir daí até o 12º dia de avaliação. Já em temperatura ambiente, a partir do 3º dia de avaliação a atividade desta enzima reduziu-se chegando a 173,54 unidades g/minuto (Figura 4).

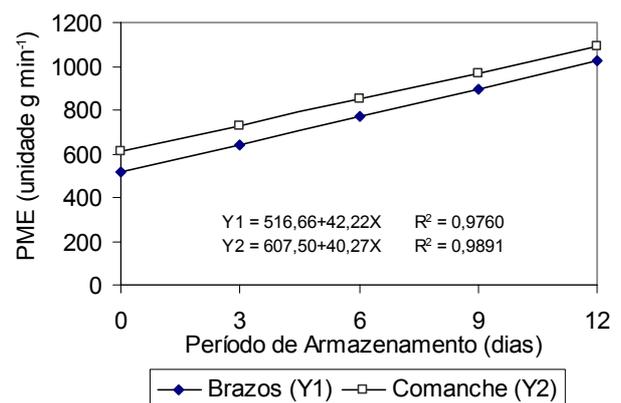


Figura 1 - Atividade de Pectinametilsterase (PME) em frutas de duas cultivares amoreira-preta, em função do período de armazenamento em dias.

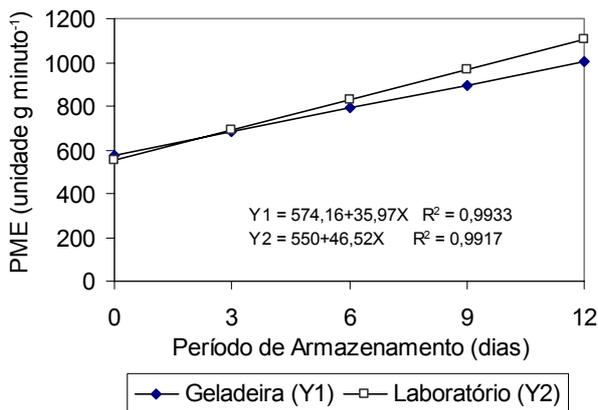


Figura 2 - Atividade de Pectinametilsterase (PME) em frutas de amora-preta em dois ambientes, em função do período de armazenamento em dias.

Tabela 1 - Valores médios para atividade de Poligalacturonase (PG) em frutas de amora-preta para interação ambiente de armazenamento e cultivar.

| Cultivares (Unidade g min ⁻¹) | | |
|---|------------|------------|
| Ambiente (°C) | Brazos | Comanche |
| 2 | 572,32 a A | 456,63 b A |
| 20 | 494,17 a B | 303,39 b B |

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si, a 1% pelo teste de Tukey.

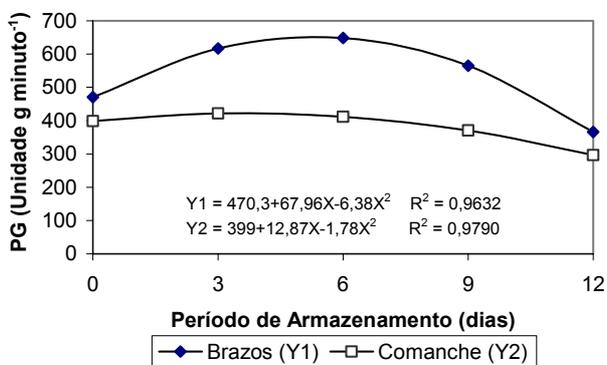


Figura 3 - Atividade de Poligalacturonase (PG) em frutas de duas cultivares amora-preta, em função do período de armazenamento em dias.

LIMA et al. (1996), trabalhando com o armazenamento de mangas (*Mangifera indica*), observaram que a atividade de PG aumentou somente após o início da queda da atividade da PME, sugerindo que esta parece preparar a protopectina, pela remoção dos grupos metila, para posterior ação da PG. Para amora-preta, foi observado aumento linear da atividade de PME durante todo o período de conservação, e redução de PG a partir do terceiro dia de armazenamento em temperatura ambiente, contrariando dados relativos ao comportamento destas enzimas em frutos de outras espécies.

Modificações nas frações pectínicas e hemicelulósicas, durante o amolecimento dos frutos de melão 'Galia', são relatados por McCollum et al. (1989) citados por CARVALHO

et al. (1995), como não tendo associação com atividade de galacturonases.

Normalmente, a degradação de polissacarídeos da parede celular é acompanhada por um aumento na atividade de hidrolases, tais como: poligalacturonases (enzimas responsáveis pela solubilização de pectinas), pectinametilsterase (enzimas que catalizam a desesterificação de grupos carboxílicos livres) e endo-β (1-4) gluconases (GONÇALVES, 1998), que podem ter efeitos marcantes na coesividade da parede celular durante o amolecimento (BICALHO, 1998).

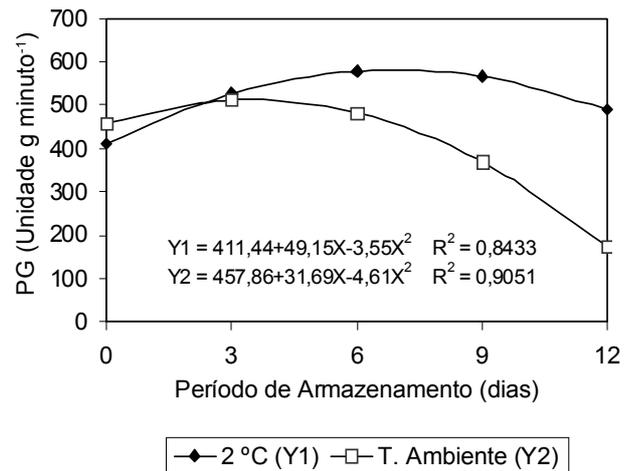


Figura 4 - Atividade de Poligalacturonase (PG) em frutas de amora-preta, em dois ambientes, em função do período de armazenamento em dias.

Segundo BICALHO (1998), a atividade de PME deve preceder a atividade da PG, no sentido de facilitar a atividade desta última, pela desmetilação da pectina. A PG teria maior afinidade pelo substrato linear após a atuação da PME, o que para amora-preta não foi observado.

Estes resultados sugerem que há maior atividade da PME, com maior solubilização de pectinas; entretanto, neste ensaio, não foi observado alteração da textura dos frutos em geladeira. A PG decresceu drasticamente em temperatura ambiente, provavelmente devido a fermentações ocorridas na fruta, provocadas pela instalação de fungos, reduzindo a atividade desta enzima provavelmente pela falta de substrato (ácido poligalacturônico).

A menor atividade de PG pode ser explicada pela falta de substrato para a ação da enzima ou pela existência de outro complexo enzimático (ABELES & TAKEDA, 1989). Enzimas como a β-galactosidase e outras celulasas poderiam estar agindo na desestruturação da parede das frutas, causando extravasamento de suco celular. A mensuração desses sistemas poderia responder a uma série de questões que não puderam ser respondidas apenas pela análise da atividade da PG.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados deste trabalho, pode-se concluir que a atividade de PME aumentou com o aumento do período de armazenamento, independente da cultivar e do meio de conservação, enquanto a atividade da PG decresceu com o aumento do período de armazenamento.

REFERÊNCIAS

- ABELES, F.B.; TAKEDA, F. Increased cellulase activity during blackberry fruit ripening. **HortScience**, Alexandria, v. 24, n. 5, p.851, 1989.
- ABREU, C.M.P.; CARVALHO, V. D. de; GONÇALVES, N.B. Cuidados pós-colheita e qualidade do abacaxi para exportação. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.19, n. 195, p. 70-72, 1998.
- ANTHON, G.E.; SEKINE, Y.; WATANABE, N. et al. Thermal inactivation of pectin methylesterase, polygalacturonase, and peroxidase in tomato juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.6153-6159, 2002.
- ANTUNES, L.E.C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C.M. de Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.3, p.413-419, 2003.
- ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 151-158, 2002.
- BICALHO, U. de O. **Vida útil pós-colheita de mamão submetido a tratamento com cálcio e filme de PVC**. Lavras, 1998, 145p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras.
- BICALHO, U. de O.; CHITARRA, A.B.; CHITARRA, M.I.F. et al. Modificações texturais em mamões submetidos à aplicação pós-colheita de cálcio e embalagens PVC. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p.136-146, 2000.
- CAMARGO, Y.R.; LIMA L.C.de O.; SCALON, S. de P.Q. et al. Efeito do cálcio sobre o amadurecimento de morangos (*Fragaria ananassa* Duch) cv. Campineiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p.968-978, 2000.
- CARVALHO, H.A. de; CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. et al. Vida útil pós-colheita de melão 'Yellow King'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 17, n. 3, p. 111-118, 1995.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320 p.
- COUTINHO, E.F.; MACHADO, N.P.; CANTILLANO, R.F.F. **Conservação pós-colheita de amora-preta**. In: Aspectos técnicos da cultura da amora-preta. [Ed.] ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.doC.B. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004, p.45-49. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 122).
- EVANGELISTA, R.M.; CHITARRA, A.B.; CHITARRA, M.I.F. Influência da aplicação pré-colheita de cálcio na textura e na atividade das enzimas PG, PME e β -galactosidase de mangas 'Tommy Atkins' armazenadas sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, (Edição Especial), p.174-181, 2000).
- GONÇALVES, N.B. **Efeito da aplicação de cloreto de cálcio associado ao tratamento hidrotérmico sobre a composição química e suscetibilidade ao escurecimento interno do abacaxi, cv. Smoth Cayenne**. Lavras, 1998. 101p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras.
- LIMA, L.C.de O.; SCALON, S. de P.Q.; SANTOS, J.E.S. Qualidade de mangas (*Mangifera indica*) cv. 'Haden' embaladas com filme de PVC durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n. 1, p. 55-63, 1996.
- MORRIS, J.R.; SPAYD, S.E.; BROOKS, J.G. et al. Influence of postharvest holding on raw and processed quality of machine harvested blackberries. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, n.6, p. 769-775. 1981.
- PAGOT, E.; HOFFMANN, A. Produção de pequenas frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003. **Anais...** Vacaria, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003. 60p. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 37).
- PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K.; CLARK, J.R. et al. Air shipment of 'Navaho' blackberry fruit to Europe is feasible. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 1, p. 132. 1997.
- PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K.; CLARK, J.R. Changes in blackberry fruit quality during storage. **Acta Horticulturae**, Alexandria, v. 352, p.87-90, 1993.
- PIMENTA, C.J.; CHAGAS, S.J.R.; COSTA, L. Pectinas e enzimas pectinolíticas em café (*Coffea arábica* L.) colhido em quatro estádios de maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p.1079-1083, 2000.