

Influência de quitosana de baixa massa molar na manutenção da qualidade pós-colheita de morangos

Tássia Silva Tavares¹, Denise Alvarenga Rocha^{1*}, Denismar Alves Nogueira², Luiza Freire¹, Ênio Nazaré de Oliveira Junior³, Celeste Maria Patto de Abreu¹

Resumo

Morangos são altamente susceptíveis à deterioração, sendo assim é indispensável o conhecimento das mudanças fisiológicas que ocorrem durante o amadurecimento, na busca da manutenção da qualidade e do prolongamento da vida útil dos frutos. O uso de revestimentos comestíveis têm se mostrado promissores na busca do aumento do tempo de armazenamento de frutos. Diante disso, objetivou-se avaliar as mudanças ocorridas na pós-colheita de morangos. Esses foram adquiridos em um pomar comercial, na região de Itutinga-MG, selecionados, sanitizados, revestidos com quitosana e armazenados. Os parâmetros avaliados a cada cinco dias (0, 5, 10, 15 e 20 dias) foram: firmeza, pectina total, pectina solúvel, % de solubilização e atividade enzimática da pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) em morangos (*Fragaria x ananassa* Duch) tratados com duas concentrações de revestimentos de quitosana (0,5 e 1,0% m/v), mantidos por vinte dias a 5°C. Houve interação significativa entre tratamentos e dias de armazenamento para todos os parâmetros estudados ($p < 0,05$). Verificou-se ao longo do armazenamento diminuição na firmeza a partir do 5º dia de armazenamento, aumento de pectina total, pectina solúvel, % de solubilização, atividade das enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) em todos os tratamentos, sendo essas mudanças mais lentas nos frutos revestidos quando comparadas com o controle. Ocorreram acréscimos da atividade da PME até o 10º dia para as amostras controle e até o final do armazenamento nos frutos revestidos. As amostras controle apresentaram maior atividade da PG quando comparadas aos frutos revestidos. Os resultados indicam que revestimentos de quitosana influenciam no metabolismo dos frutos.

Palavras-chave: Frutos. Biopolímero. Poligalacturonase (PG). Pectinametilesterase (PME).

Influence of chitosan of low molar mass on post-harvest quality maintenance of strawberries

Abstract

Strawberries are highly susceptible to deterioration, therefore, the knowledge on physiological changes that occur during ripening is indispensable in researches for maintaining the quality and prolonging the shelf-life of these fruits. The use of edible coatings has been promising in seeking the increase in fruit

¹Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras – UFLA, CEP 37200-000 Lavras, MG, Brasil

*Autora para correspondência: deniserocha3@hotmail.com

²Departamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Alfenas-UNIFAL, CEP 37133-840, Alfenas, MG, Brasil

³Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos, Universidade Federal de São João Del Rei – UFSJ, Campus Alto Paraopeba, CEP 36420-000, Ouro Branco, MG, Brasil

Recebido para publicação em 07 de março de 2017

Aceito para publicação em 13 de junho de 2017

storage time. Thus, the objective was to evaluate the changes occurred in the postharvest of strawberries. These were acquired from a commercial orchard in the region of Itutinga, Minas Gerais, Brazil, selected, sanitized, coated with chitosan and stored. The parameters evaluated every 5 days (0, 5, 10, 15 and 20 days) were: firmness, total pectin, soluble pectin and percentage of solubilization, pectin methyl esterase (PME) and polygalacturonase (PG) activity in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch) treated with chitosan coating (0.5% and 1.0% w/v) at 5°C for 20 days. There was significant interaction between the treatments and storage days for all studied parameters ($p < 0.05$). We verified a decrease in firmness from the fifth day of storage, increase of total pectin, soluble pectin, solubilization percentage, pectin methyl esterase (PME) and polygalacturonase (PG) activity. An increase in the activity of PME occurred up until day 10 for the control samples and up until the end of storage for the coated fruits. The control samples presented higher PG activity when compared with coated fruits. The results indicate that chitosan coatings delayed the metabolism of strawberries.

Keywords: Fruits. Biopolymer. Polygalacturonase (PG). Pectin methyl esterase (PME)

Introdução

O morango é muito apreciado pelos consumidores em todo o mundo, devido a suas propriedades sensoriais e seu elevado valor nutricional. É um fruto não climatérico e com vida pós-colheita curta, sua vida útil é de dois dias em temperatura ambiente, sendo cultivado em uma grande variedade de climas e, entre as bagas, a sua produção mundial ocupa o segundo lugar, ficando apenas depois das uvas (BODELÓN *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2014).

O intenso metabolismo de morangos está associado à diversas reações químicas catalisadas por enzimas, resultando em alterações nos frutos. Muitas das alterações indesejáveis acontecem nos componentes da parede celular dos frutos, e estão associadas principalmente às substâncias pécticas (GOODWIN; MERCER, 1982). As substâncias pécticas derivam dos ácidos poligalacturônicos e ocorrem nas formas de protopectina, ácido pectínico e ácido péctico, atuando como materiais cimentantes na parede celular (PAIVA, LIMA, 2009) e os ácidos poligalacturônicos são os compostos pécticos mais abundantes, formados principalmente por cadeias não ramificadas de resíduos de ácido com ligação α 1,4-D-galacturônico, metil esterificados. O aumento da solubilização de substâncias pécticas na parede celular causa mudanças na firmeza dos frutos (FERTONANI, 2006).

Desse modo, o amolecimento dos frutos está intimamente relacionado com a solubilização e despolimerização da pectina (KURZ; CARLE; SCHIEBER, 2008; ROSLI; CIVELLO; MARTÍNEZ, 2004). Sendo a enzima PME responsável pela desesterificação dos compostos pécticos constituintes da parede celular dos vegetais, resultando

em pectinas com menor grau de metilação, que sofre clivagem pela PG. O efeito sinérgico dessas duas enzimas é importantíssimo no processo de amolecimento de frutos durante o estágio de amadurecimento, uma vez que a PME atua disponibilizando pectinas com maior número de grupos carboxílicos, o que pode facilitar a ação da PG, que degrada substâncias pécticas, preferivelmente desesterificadas (ANTUNES; GONÇALVES; TREVISAN, 2006.)

A degradação das substâncias pécticas estão associadas ao amolecimento dos frutos Liu *et al.* (2009), como também a despolimerização e solubilização dos polissacarídeos, perda de água e degradação de outros compostos durante as modificações químicas da parede celular (CHEN *et al.*, 2011), no entanto, os mecanismos pelos quais os frutos amolecem durante o armazenamento ainda não são totalmente elucidados.

Morangos possuem alta taxa de amolecimento associado à perda de qualidade, tornando-se impróprios para o consumo. Nesse sentido, é de extrema importância estudos relacionados às modificações da parede celular dos frutos de morango com o objetivo de manter a qualidade dos mesmos por mais tempo.

Diante dessa necessidade, tem sido bastante investigado o uso de revestimentos comestíveis na manutenção da qualidade de frutos. A quitosana é um polissacarídeo que atualmente vem sendo estudado em diversas áreas, mostrando-se promissora na área de alimentos, sendo muito investigada para utilização na pós-colheita de frutos e vegetais. Esse composto é um biopolímero policatiônico, produzido industrialmente por desacetilação química da quitina, essa é encontrada em abundância em exoesqueletos dos

crustáceos, embora possa também ser obtida diretamente a partir das paredes celulares de algumas plantas e fungos (HERNANDEZ-MUÑOZ *et al.*, 2006). A larga aplicação desse biopolímero como revestimento comestível deve-se a sua boa biocompatibilidade com os tecidos vivos, não toxicidade, biodegradabilidade, atividade antifúngica e capacidade de formar película (VELICKOVA *et al.*, 2013).

O entendimento da bioquímica do amaciamento de frutos com o amadurecimento associado a técnicas que contribuem na desaceleração do metabolismo dos frutos poderá propiciar informações comerciais importantes, uma vez que mais firmes, os frutos poderão ser comercializados por períodos mais longos. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar as mudanças ocorridas em morangos revestidos com quitosana em diferentes concentrações, observando as alterações associadas à pectina, firmeza e as enzimas PME e PG durante vinte dias de armazenamento sob refrigeração (5°C).

Material e métodos

Material

Os morangos (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Camino real foram adquiridos no município de Itutinga-MG. Após a colheita, os frutos foram transportados para o Laboratório de Bioquímica, no Departamento de Química da UFLA e selecionados, em relação ao tamanho, estágio de maturação e à ausência de defeitos.

A quitosana utilizada foi a Chitoclear® de baixa massa molar, 245 kDa e grau de acetilação 6,3% adquirida da Primex da Islândia. Para o preparo dos revestimentos a quitosana foi dissolvida em ácido acético 1% v/v e homogeneizada, sendo as soluções preparadas nas concentrações 0,5% e 1%, m/v. Os frutos foram selecionados e sanitizados segundo Vargas *et al.* (2006), posteriormente, foram separados em três lotes, um lote foi o grupo controle e os outros dois receberam o tratamento por meio da imersão manual dos frutos nas soluções de revestimento de quitosana (0,5 e 1,0% m/v). Após a secagem dos revestimentos, os frutos foram acondicionados em bandejas de Polietileno Tereftalato (PET), e armazenados à 5°C (na geladeira) por 20 dias. As análises foram iniciadas logo após a secagem do revestimento (dia zero) e, a cada cinco dias, até o fim do período de armazenamento, o mesmo foi feito para os frutos controle.

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (DIC) e esquema fatorial (3X5), sendo 3 tratamentos: a) Controle (sem quitosana); b) Revestimento de quitosana 0,5% m/v e c) Revestimento de quitosana 1,0% m/v e 5 tempos de análises, correspondente aos dias 0, 5, 10, 15 e 20, com 3 repetições de 8 frutos para cada tratamento. A análise estatística foi realizada com o software Sisvar (FERREIRA, 2008), calculando o teste de Tukey com 5% de significância, quando significativos, as médias foram submetidas à análise de regressão polinomial.

Firmeza (%)

A firmeza dos frutos foi determinada com o auxílio de um penetrômetro McCormick (modelo FT 327), com sonda de 3mm de diâmetro em 8 frutos por repetição, sendo realizadas duas medições equidistantes por fruto, na zona equatorial. Os resultados estão expressos em Newton (N).

Pectina total e solúvel

A extração de substâncias pécicas foi realizada seguindo a técnica descrita por Mccready e Mccomb (1952) e determinada por colorimetria por meio da reação de carbazol de acordo com Bitter e Muir (1962) e os resultados foram expressos em mg de ácido galacturônico por 100g de polpa.

Percentual de solubilização

A percentagem de solubilização foi calculada a partir de dados de pectina total e solúvel, usando a equação: % de solubilização = (pectina solúvel/pectina total) x 100.

Atividade da pectinametilsterase (PME)

Foi determinada segundo a metodologia de Jen e Robinson (1984). O substrato usado foi pectina cítrica 1,0% em NaCl (0,2N pH 7,0) à temperatura ambiente. A taxa de desmetilação da pectina, adicionada ao extrato enzimático, foi medida pela titulação da mistura de reação com NaOH (0,01N), mantendo o pH 7,0 por 10 minutos. Uma unidade de atividade de pectinametilsterase foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação de pectina correspondente a um micromol de NaOH por minuto nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades/100g.

Atividade da poligalacturonase (PG)

O extrato e a determinação da atividade

foram feitos segundo Pressey e Avants (1982). A atividade foi determinada por incubação do extrato com solução de pectina cítrica (0,25%) a 30°C por 3 horas. A reação foi interrompida com banho fervente e os grupos redutores liberados determinados pela técnica de Somogyi, modificada por Nelson *et al.* (1944), usando glicose anidra como padrão. Uma unidade de atividade da PG foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a formação de um nanomol (nmol) de grupos redutores por minuto nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades/100g.

Resultados e discussão

Firmeza (N)

Observou-se alteração da firmeza dos morangos ao longo do armazenamento. Isso já era esperado, pois a firmeza dos frutos é afetada principalmente por alterações decorrentes de processos fisiológicos que continuam acontecendo mesmo após a colheita, ocasionando o amolecimento dos frutos (GAYOSSO-GARC *et al.*, 2010). No entanto, notou-se aumento significativo da firmeza dos frutos nos primeiros dias de armazenamento (TABELA1).

Tabela 1 – Resultados da média e desvio padrão de firmeza, pectina total (PT), pectina solúvel (PS), % de solubilização, atividade de pectinametilesterase (PME) a atividade de poligalacturonase (PG) em morangos, revestidos com quitosana e armazenados em temperatura refrigerada (5°C) durante 20 dias

	Dias	Controle	0,5% m/v de quitosana	1,0% m/v de quitosana
Firmeza (EP = 0,016)	0	0,62 ± 0,03 ^b	0,69 ± 0,02 ^a	0,66 ± 0,02 ^{ab}
	5	1,44 ± 0,01 ^a	1,12 ± 0,03 ^b	0,98 ± 0,03 ^c
	10	1,00 ± 0,04 ^a	0,98 ± 0,03 ^a	0,87 ± 0,01 ^b
	15	0,46 ± 0,02 ^b	0,59 ± 0,04 ^a	0,56 ± 0,03 ^a
	20	0,34 ± 0,03 ^a	0,34 ± 0,04 ^a	0,32 ± 0,02 ^a
PT (EP = 3,93)	0	242,84 ± 2,46 ^b	282,28 ± 7,64 ^a	269,71 ± 8,84 ^a
	5	263,17 ± 3,74 ^c	300,23 ± 11,66 ^a	278,14 ± 7,76 ^b
	10	300,23 ± 8,81 ^b	324,26 ± 11,45 ^a	295,03 ± 5,54 ^b
	15	324,27 ± 3,97 ^b	345,87 ± 8,68 ^a	304,69 ± 3,25 ^c
	20	361,29 ± 4,41 ^b	384,55 ± 68,66 ^a	335,33 ± 5,00 ^c
PS (EP=3,13)	0	143,12 ± 1,91 ^b	164,07 ± 3,82 ^a	156,48 ± 3,82 ^a
	5	185,07 ± 1,99 ^a	176,83 ± 9,60 ^a	175,37 ± 3,83 ^a
	10	225,00 ± 2,00 ^a	197,18 ± 12,27 ^b	191,49 ± 6,12 ^b
	15	245,63 ± 1,52 ^a	230,26 ± 4,41 ^b	209,60 ± 3,85 ^c
	20	288,78 ± 5,83 ^a	281,15 ± 5,83 ^{ab}	276,72 ± 1,49 ^b
% de solubilização (EP=1,13)	0	58,94 ± 1,34 ^a	58,16 ± 4,18 ^a	58,03 ± 1,71 ^a
	5	70,33 ± 1,47 ^a	58,90 ± 2,19 ^c	63,05 ± 2,59 ^b
	10	74,99 ± 2,33 ^a	60,77 ± 1,12 ^c	64,92 ± 3,05 ^b
	15	75,75 ± 0,73 ^a	66,65 ± 3,53 ^b	68,81 ± 2,83 ^a
	20	79,93 ± 1,07 ^a	73,11 ± 3,00 ^b	82,53 ± 2,69 ^a
PME (EP=0,87)	0	7,67 ± 1,12 ^a	9,19 ± 1,39 ^a	9,61 ± 1,18 ^a
	5	13,50 ± 0,81 ^a	10,59 ± 1,53 ^b	11,90 ± 0,89 ^{ab}
	10	18,05 ± 0,90 ^a	12,24 ± 1,41 ^b	14,57 ± 1,53 ^b
	15	19,05 ± 1,93 ^a	15,12 ± 0,89 ^b	16,16 ± 1,53 ^{ab}
	20	19,55 ± 1,53 ^a	15,89 ± 1,79 ^b	17,09 ± 2,13 ^{ab}
PG (EP=105,78)	0	1642,50 ± 38,97 ^b	2115,00 ± 38,97 ^a	1957,50 ± 30,00 ^{ab}
	5	2025,00 ± 67,50 ^a	2137,50 ± 103,11 ^a	2160,00 ± 67,50 ^a
	10	2681,33 ± 568,50 ^a	2295,00 ± 116,91 ^b	2812,50 ± 169,87 ^a
	15	3058,67 ± 43,22 ^a	2880,00 ± 255,55 ^a	2970,00 ± 135,00 ^a
	20	3076,67 ± 49,07 ^a	2925,00 ± 103,11 ^a	3098,33 ± 125,13 ^a

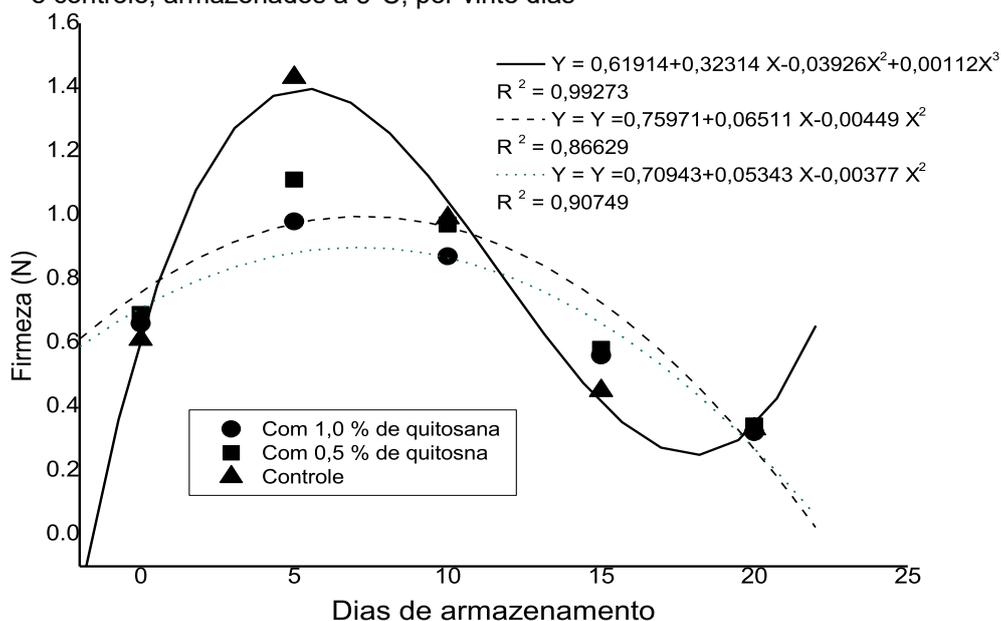
As médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não diferem ($p < 0,05$) estatisticamente pelo teste de Tukey. EP – erro padrão da comparação.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2017.

Isso pode ser devido a mudança brusca de temperatura realizada no início do armazenamento, no dia 0 os frutos apresentavam ainda a temperatura do campo e após 5 dias de armazenamento a 5°C apresentaram enrijecimento nos tecidos do frutos, o que pode ser observado na diferença da firmeza entre o primeiro e o 5º dia de armazenamento, sendo o maior aumento (%) no tratamento controle quando comparados com os frutos revestidos (TABELA 1).

O aumento na firmeza no 5º dia foi mais acentuado nos frutos não revestidos (GRÁFICO 1), indicando que esses frutos foram mais susceptíveis a baixas temperaturas, desse modo observou-se a eficiência da película formada pelos revestimentos nos demais tratamentos apresentaram influência positiva em relação ao aumento da firmeza causado pelos enrijecimentos dos tecidos dos frutos.

Gráfico 1 – Curvas e equações de regressão de firmeza ($p < 0,05$) de morangos revestidos com quitosana e controle, armazenados à 5°C, por vinte dias



Fonte: Elaborado pelos autores, 2017.

Após 10 dias de armazenamento, os morangos apresentaram intenso metabolismo, resultando na diminuição da firmeza. A diferença entre os valores de firmeza entre o quinto dia e os demais resultou na diminuição de 30,77%, 68,53% e 76,92% nas amostras controle, 12,61%, 47,75% e 69,37% e 11,22%, 42,86% e 67,35% nos frutos com 0,5% m/v e 1,0% m/v de quitosana, nos dias 10, 15 e 20, respectivamente. Assim, os frutos revestidos apresentaram percentagem (%) menor na perda de firmeza, o que pode ter sido ocasionado devido ao retardamento do metabolismo causado pela associação da baixa temperatura e o revestimento de quitosana. SILVA *et al.*, 2012 também observaram queda de 53,05% na firmeza em morangos em temperatura ambiente na ausência de tratamentos em apenas 6 dias de armazenamento (SILVA *et al.*, 2012), sendo esses valores (%) superiores aos encontrados nesse estudo no décimo dia de armazenamento para os morangos revestidos com quitosana sob temperatura refrigerada. Em 20 dias de armaze-

namento como esperado ocorreu uma diminuição considerável na firmeza dos frutos em todos os tratamentos, sabe-se que o aumento da atividade metabólica dos frutos leva à degradação do fruto, em morangos isso ocorre até mesmo antes desse período quando na ausência de refrigeração e/ou tratamentos.

De acordo com Velickova *et al.* (2013) a manutenção da firmeza de morangos revestidos está relacionada ao metabolismo reduzido do fruto. O efeito benéfico das aplicações de revestimentos sobre a textura do morango foi relatado para revestimentos preparados a partir de quitosana associada a ácido oleico (VARGAS *et al.*, 2006), a cálcio Hernández-Muñoz *et al.*, (2008) e cera de abelha Velickova *et al.* (2013).

Todavia, a diminuição da firmeza está associada à senescência, com a ação de enzimas degradantes da parede celular, como a poligalacturonase e pectinametilesterase. Assim, os frutos

tornam-se amolecidos, ou seja, apresentam menor firmeza e, conseqüentemente, ficam mais frágeis ao transporte, resultando em menor tempo de vida útil.

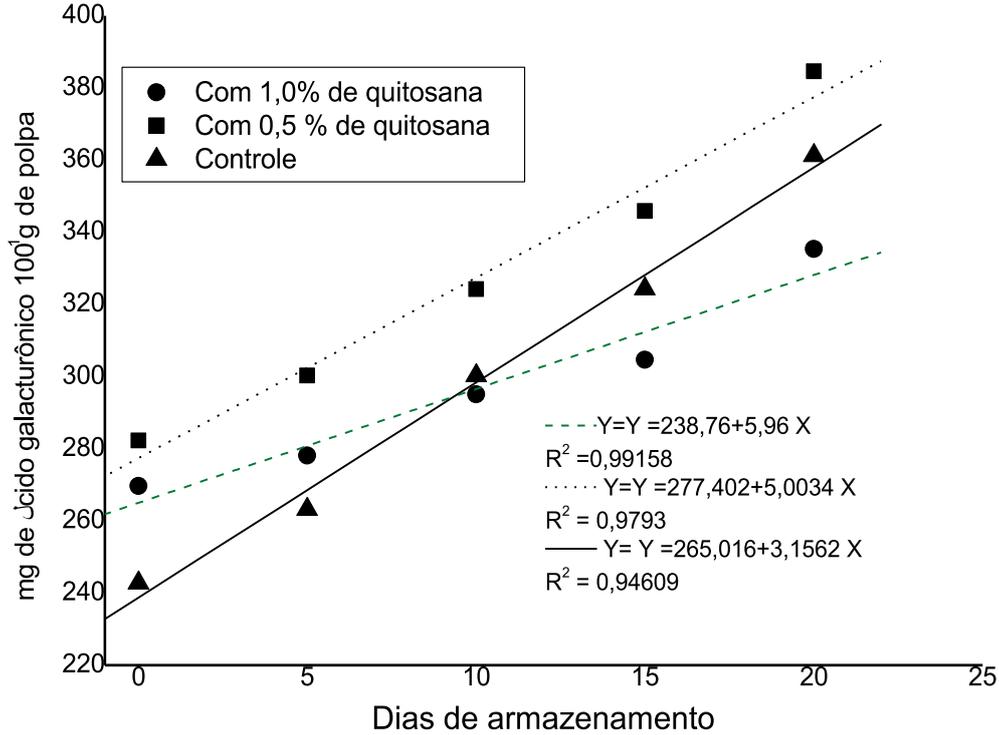
Pectina total (PT), pectina solúvel (PS) e % solubilização

Durante o período de armazenamento observou-se alterações na concentração de pectina total (PT) e pectina solúvel (PS) dos frutos (GRÁFICO 2 e GRÁFICO 3), ocorrendo efeito significativo para a interação entre os fatores tratamento x dias de armazenamento ($p < 0,05$). As amostras controle iniciaram o armazenamento com menores teores de PT e PS (mg ácido galacturônico/100g da polpa) em relação aos demais tratamentos (0,5% m/v e 1,0% m/v de quitosana). Diante disso, os frutos revestidos com quitosana 0,5% m/v apresentaram maiores teores de PT em relação ao controle durante todo o armazenamento (Tabela 1), contudo, a partir da diferença entre o tempo inicial e os demais dias ao longo do armazenamento é possível verificar o aumento nos teores (%) de PT, sendo esse observado superior nos frutos controle (8,68%, 24,06%, 33,40% e 49,29%) em relação aos morangos revestidos com 0,5% m/v de quitosana (6,36%, 14,87%, 22,52% e 36,23%) nos dias 5, 10, 15 e 20, respectivamente. No entanto, os tratamentos com 0,5% m/v e 1,0% m/v de quitosana diferiram significativamente nos dias 5, 10, 15 e 20, sendo verificado menores acréscimos de PT (3,13%, 9,40%, 12,97% e 24,33%) nos frutos com 1,0% do revestimento. Em relação a PS observou-se

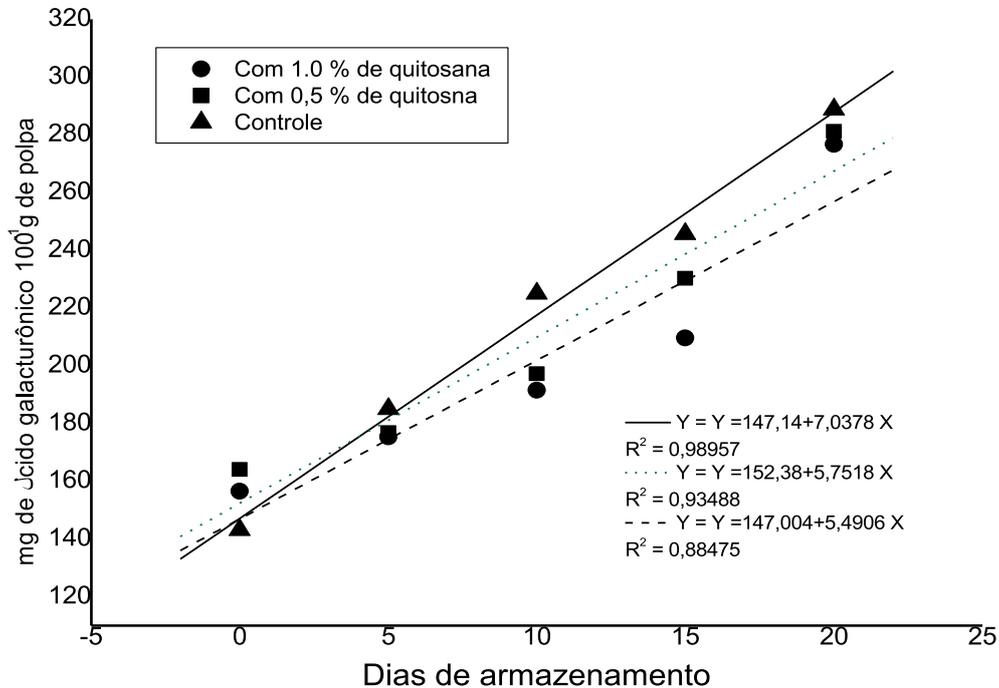
nos dias 10 e 15 menores teores em relação ao controle para os frutos revestidos com ambas concentrações de quitosana, no entanto, nos dias 15 e 20 a PS foi menor no tratamento com 1,0% m/v de quitosana (TABELA 1).

Segundo Goulão e Oliveira (2008) as alterações da parede celular estão associadas ao amolecimento durante o amadurecimento dos frutos e são relacionadas principalmente à solubilização e despolimerização das pectinas; assim, pode ser observado as tendências de PS durante o armazenamento, ocorrendo acréscimos em ambos os tratamentos.

Os valores de PT para morangos da cv. Camino real encontrados nesse estudo são inferiores aos valores verificados por Contreras *et al.* (2007) 530 mg.100 g⁻¹. Todavia, são próximos dos teores de PT em morangos da cv. Tudla (370 mg.100 g⁻¹) observados por Silva *et al.* (2009) estudando qualidade de diferentes cultivares de morangos, armazenados em temperatura ambiente. Segundo os autores, a variação dos teores de PT ocorre em diferentes cultivares de morangos. Além disso, o aumento de PT também pode estar relacionado à eficiência da metodologia de extração da PT quando o fruto não está totalmente maduro; o que sugere que a pectina dentro da parede está em uma forma não acessível à pectinase, e a eficiência de extração talvez possa aumentar com o amadurecimento, já que a maioria dos polissacarídeos sofre hidrólise com o avanço do amadurecimento (OLIVEIRA JÚNIOR *et al.* (2004).

Gráfico 2 – Curvas e equações de regressão de pectina total ($p < 0,05$) de morangos revestidos com quitosana e controle, armazenados à 5°C, por vinte dias

Fonte: Elaborado pelos autores, 2017.

Gráfico 3 – Curvas e equações de regressão de pectina solúvel ($p < 0,05$) de morangos revestidos com quitosana e controle, armazenados à 5°C, por vinte dias

Fonte: Elaborado pelos autores, 2017.

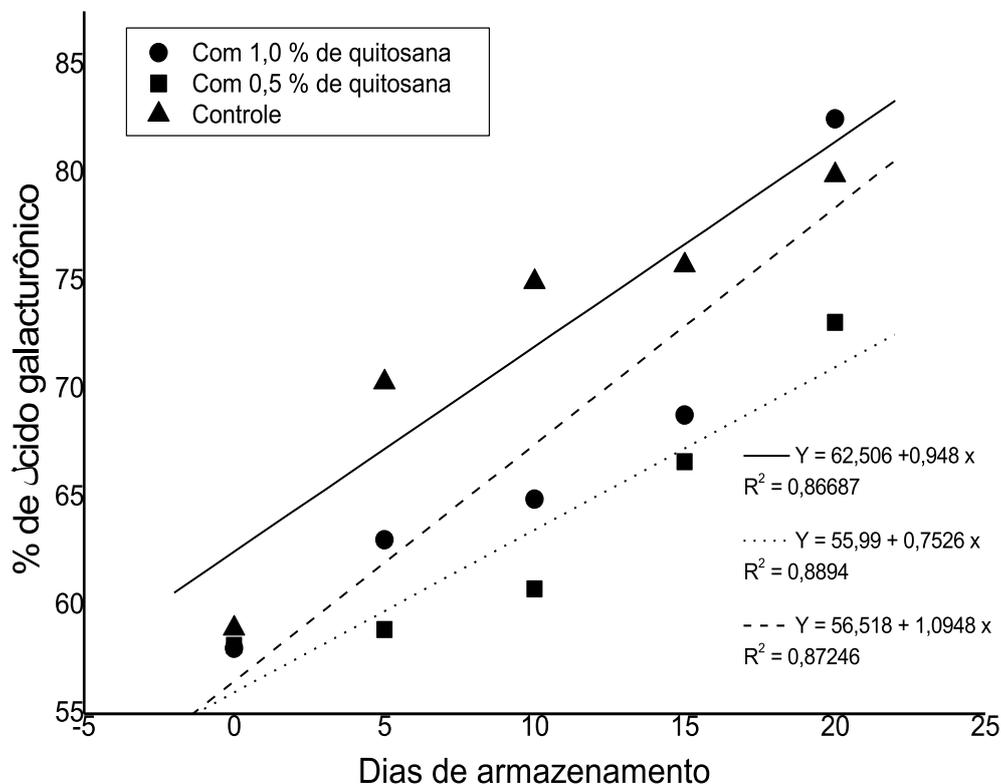
Em relação a% de solubilização de ácidos galacturônicos, essa ocorreu nos frutos controle de forma mais acentuada no décimo dia do armazenamento, apresentando 74,99 % de solubilização,

diferindo das amostras tratadas com 0,5% e 1,0% m/v de quitosana que tiveram valores inferiores de 60,77 e 64,92%, respectivamente (TABELA 1 e GRÁFICO 4). Esses resultados corroboram

com a maior percentagem na perda da firmeza dos frutos controle verificada no mesmo período

de armazenamento (GRÁFICO 1).

Gráfico 4 – Curvas e equações de regressão de % solubilização ($p < 0,05$) de morangos revestidos com quitosana e controle, armazenados á 5°C, por vinte dias



Fonte: Elaborado pelos autores, 2017.

Diante disso, é possível que os revestimentos tenham influenciado na intensidade metabólica de forma positiva, resultando no metabolismo mais lento dos morangos, uma vez que os acréscimos nos teores das substâncias pécicas estão associados ao intenso metabolismo dos vegetais. Sendo a pectina um dos principais componentes químicos dos tecidos e responsáveis pelas mudanças de textura dos frutos, essa atua a partir dos grupos carboxílicos ácidos que encontram-se ligados ao cálcio, formando o pectato de cálcio, que é insolúvel e também designado como protopectina, predominante nos frutos imaturos; com o amadurecimento, por ação enzimática, ocorre liberação do cálcio e a solubilização de protopectina das paredes celulares, há então modificação da textura, que se torna gradualmente macia. Essas transformações ocorrem durante o amadurecimento, como também no armazenamento dos frutos. As pectinas em frutos encontram-se sob diferentes formas, caracterizadas por diferentes solubilidades; assim, a protopectina é uma forma insolúvel em água e que, por hidrólise parcial, produz ácidos pectínicos ou ácidos pécicos, também chamados de pectinas solúveis

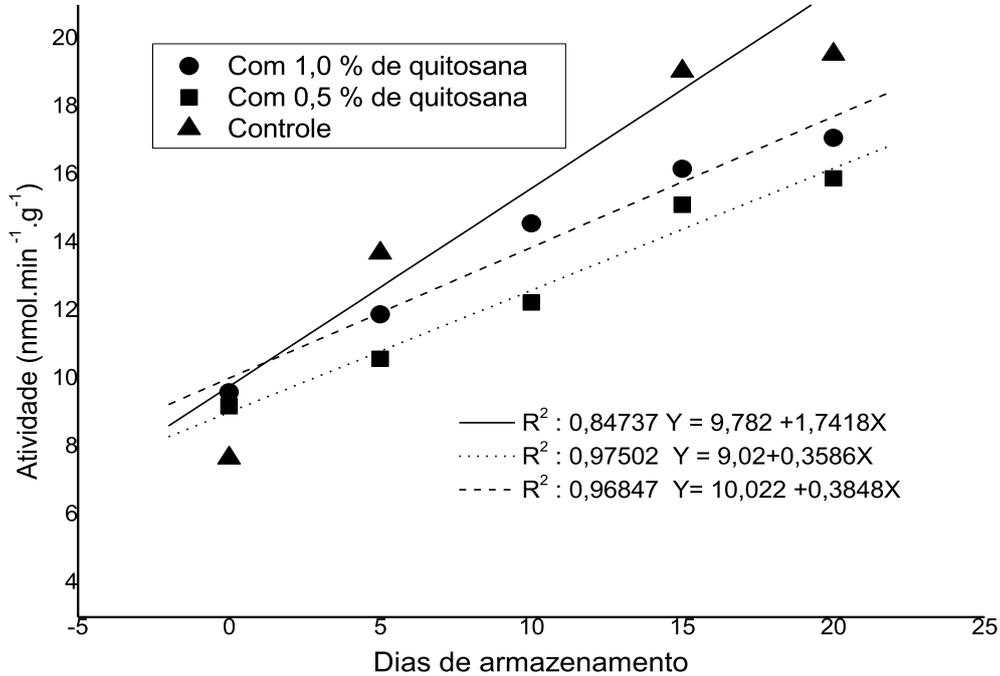
(CHITARRA; CHITARRA, 2005). O aumento na fração solúvel de substâncias pécicas durante o amadurecimento ocorre devido aos processos atribuídos à ação de enzimas pectinolíticas, sendo a solubilização de substâncias pécicas uma tendência natural, durante a maturação dos frutos (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Atividade enzimática da pectinametilsterase (PME) e poligalacturonase (PG)

Foi verificado acréscimos na atividade das enzimas PME e PG ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) em todos os tratamentos ao longo do armazenamento dos morangos (GRÁFICO 5 e GRÁFICO 6). Inicialmente (dia 0) a atividade da PME não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos. Contudo, verificou-se menores acréscimos da atividade da PME (15,2%, 33,2%, 64,5% e 72,9%) nas amostras com 0,5% m/v de quitosana, quando comparada com os frutos revestidos com 1,0% m/v (23,8%, 51,6%, 68,4% e 77,9%) e o controle (70,4%, 135,3%, 148,4% e 155,0%), nos dias 5, 10, 15 e 20, respectivamente. Dessa forma, observou-se um aumento mais expressivo

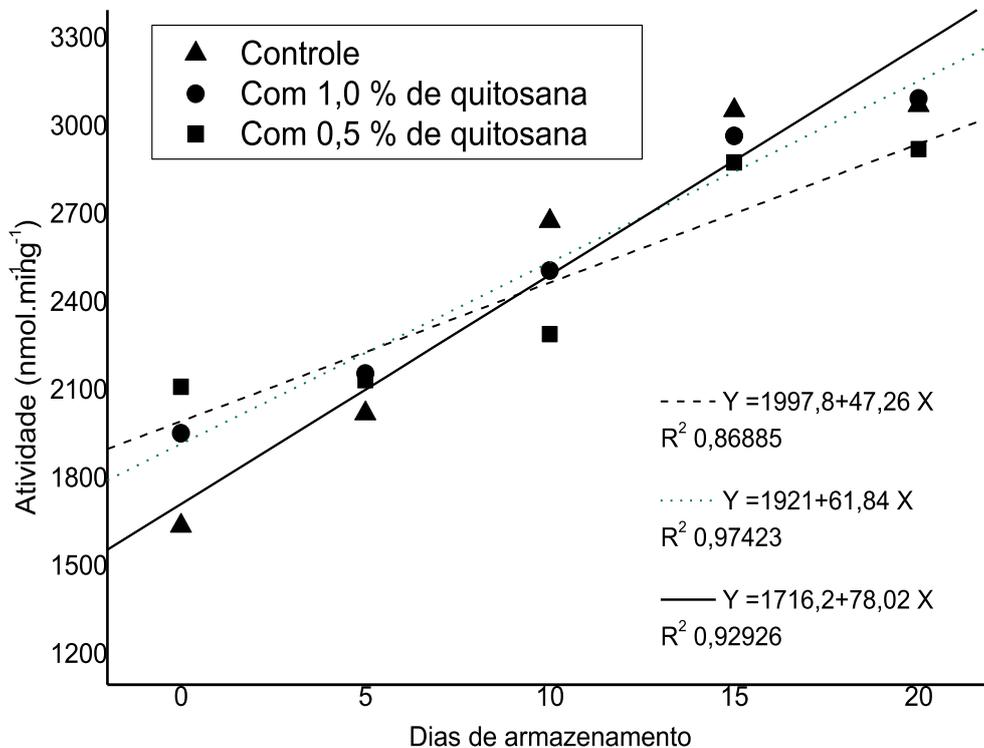
(%) da atividade da PME no controle (135,33%), diferindo significativamente dos tratamentos com quitosana no final do armazenamento (20º dia).

Gráfico 5 – Curvas e equações de regressão da atividade de pectinametilsterase ($p < 0,05$) de morangos revestidos com quitosana e controle armazenados à 5°C



Fonte: Elaborado pelos autores, 2017.

Gráfico 6 - Curvas e equações de regressão da atividade de poligalacturonase ($p < 0,05$) de morangos revestidos com quitosana e armazenados, sob temperatura refrigerada (5°C), por vinte dias



Fonte: Elaborado pelos autores, 2017.

Assim, o tratamento com 0,5% m/v de quitosana apresentou menor atividade da PME durante todo armazenamento, porém, o mesmo não foi observado nos frutos com 1,0% m/v de quitosana, esse diferiu do controle apenas no 10º dia (TABELA 1). O aumento mais acentuado na atividade da PME no controle indica o intenso metabolismo desses frutos, no entanto, observou-se no final do armazenamento (dias 15 e 20) uma tendência na atividade enzimática manter-se constante, isso indica a diminuição na intensidade metabólica, sendo esse o período final da vida útil dos morangos.

Outros estudos com frutos tropicais também verificaram aumento da PME durante o armazenamento (LIMA; ALVES; FIGUEIRA, 2006). No entanto, esses os autores relatam que a atividade dessa enzima nem sempre é observada, podendo aumentar, diminuir ou permanecer constante durante a maturação do fruto. Segundo González-Aguilar *et al.* (2009), estudando mamão minimamente processado revestido com quitosana, a atividade da PME foi 50% maior nas amostras controle. Esse estudo sugere a influência da quitosana na menor atividade da PME, indicando que os revestimentos influenciaram no metabolismo dos frutos. Silva *et al.* (2012) verificaram no sexto dia de armazenamento atividade da PME (60,22 nmol.min⁻¹.g⁻¹) em morangos à temperatura ambiente, superior aos observados nesse estudo.

A atividade da enzima PG apresentou-se crescente ao longo do armazenamento. No entanto, as amostras revestidas com quitosana iniciaram o armazenamento com maior atividade dessa enzima (dia 0), quando comparadas com o controle (TABELA 1). Desse modo, verificou-se que as amostras sem revestimento apresentaram acréscimos maiores na atividade da PG (23,33%, 63,28%, 86,24% e 87,33%), quando comparados com os frutos revestidos com 1,0% m/v (10,37%, 43,69%, 51,76% e 58,30%) e 0,5% m/v de quitosana (1,04%, 8,51%, 36,17% e 38,30%), nos dias 5, 10, 15 e 20, respectivamente. No 10º dia a PG apresentou menor atividade nos morangos com 0,5% m/v do revestimento (2295 nmol.min⁻¹.g⁻¹), enquanto o controle e as amostras com 1,0% m/v de quitosana não diferiram entre si (2681 e 2812 nmol.min⁻¹.g⁻¹), respectivamente. No final do armazenamento não ocorreu diferença significativa entre o controle e os frutos revestidos, contudo, elevada atividade da PG foi observada em todos os tratamentos, o que normalmente

ocorre nesse período, devido à senescência dos frutos.

Silva *et al.* (2009) também observaram aumento na atividade enzimática (13,32 e 888,50 nmol.min⁻¹.g⁻¹) da PME e PG em morangos cv. Tuda no quinto dia de armazenamento, respectivamente; além de maior % de solubilização durante o armazenamento de morangos. Já Santana *et al.* (2008) não observaram atividade da PME em uvas, mas identificaram alta atividade da PG. A intensa atividade da PG (6240 nmol.min⁻¹.g⁻¹) foi observada por Silva *et al.* (2012) no sexto dia de armazenamento de morangos a temperatura ambiente. Em relação à atividade dessas enzimas (PG e PME), a atuação da PG não depende da ação da PME, no entanto, ocorre um efeito sinérgico. A hidrólise de grupos metil-éster, catalisada pela PME, produz uma pectina com menor grau de metilação, que sofre clivagem pela PG. Assim, o efeito sinérgico dessas duas enzimas tem um importante papel no processo de amolecimento do fruto, durante o estágio de amadurecimento. A desmetilação da pectina resulta em um maior número de grupos carboxílicos, o que pode facilitar a ação da poligalacturonase, que degrada substâncias pécticas, preferivelmente desesterificadas (FRY, 1986).

Conclusão

Os revestimentos de quitosana em ambas concentrações (0,5% e 1,0% m/v) influenciaram na intensidade metabólica dos morangos, desacelerando o metabolismo e conseqüentemente prolongando a vida útil desses frutos. Dessa disso, os frutos com revestimento apresentaram menores percentagem na perda de firmeza(%), como também menores percentagem de acréscimos (%) na atividade enzimática, teores de pectina e percentagem de solubilização, quando comparados com frutos não tratados, propiciando assim frutos mais firmes e estendendo a vida útil desses produtos. Esses resultados apontam que os revestimentos de quitosana associados à refrigeração podem ser utilizados influenciando positivamente na manutenção da qualidade pós-colheita de morangos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, à CAPES e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Referências

- ANTUNES, L. E. C.; GONÇALVES, E. D.; TREVISAN, R. Alterações da atividade da poligalacturonase e pectinametilesterase em amorapreta (*rubus spp*) durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n.1, p. 63-66, 2006.
- BITTER, T.; MUIR, H. M.A modified uronic acid carbazole reaction. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 4, n. 4, p.330-334, 1962.
- BODELÓN, O. G. *et al.* Pressurization and cold storage of strawberry purée: colour, anthocyanins, ascorbic acid and pectin methylesterase. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 52, n. 2, p. 123-130, July 2013.
- BRUMMELL, D. A.; HARPSTER, M. H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. **Plant Molecular Biology**, Wageningen, v. 47, n. 1/2, p. 311-340, 2001.
- CHEN, Y. C. *et al.* Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Xiamen, China. **Food Control**, Guildford, v. 22, n. 7, p. 1114-1120, July 2011.
- CHITARRA, M. I.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.
- CONTRERAS, C. *et al.* Influence of osmotic pre-treatment and microwave application on properties of air-dried strawberry related to structural changes. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 224, n. 4, p. 499-504, 2007.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar**. Versão 4.2. Lavras: DEX/UFLA, 2008. Software.
- FERTONANI, H, C, R. **Estabelecimento de extração ácida de pectina em bagaço de maçã**. 2006.82 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.
- GAYOSSO-GARC, L. E. *et al.* Effect of maturity stage of papaya maradol on physiological and biochemical parameters. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, Saint Paul, v. 5, n. 2, p. 194-203, 2010.
- GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. *et al.* Effect of chitosan coating in preventing deterioration and preserving the quality of fresh-cut papaya 'Maradol'. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 89, n. 1, p. 15-23, 2009.
- GOODWIN, T. W.; MERCER, E. I. **Introduction to plant biochemistry**. Oxford: Pergamon, 1982. 667 p.
- GOULÃO, L. F.; OLIVEIRA, C. M. Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 19, n. 1, p. 4-25, 2008.
- HERNANDEZ-MUÑOZ, P. *et al.* Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 247-253, 2006.
- HERNANDEZ-MUNOZ, P. *et al.* Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry quality during refrigerated storage. **Food Chemistry**, Oxford, v. 110, n. 2, p. 428-435, 2008.
- JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. P. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, p. 1045-1087, 1984.
- KUMAR, S. *et al.* Postharvest changes in antioxidant capacity, enzymatic activity, and microbial profile of strawberry fruits treated with enzymatic and divalent ions. **Food and Bioprocess Technology**, Chicago, v. 7, n. 7, p. 2060-2070, 2014.
- KURZ, R. C.; CARLE, A.; SCHIEBER, A. Characterisation of cell wall polysaccharide profiles of apricots (*Prunus armeniaca* L.), peaches (*Prunus persica* L.), and pumpkins (*Cucurbita* sp.) for the evaluation of fruit product authenticity. **Food Chemistry**, Oxford, v. 106, n. 1, p. 421-430, 2008.
- LIMA, M. A. C. de; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C. Mudanças relacionadas ao amaciamento da graviola durante a maturação pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1707-1713, dez. 2006.
- LIU, F. H. *et al.* Effect of calcium treatment on nanostructure of chelate-soluble pectin and physicochemical and textural properties of apricot fruits. **Food Research International**, Barking, v. 42, n. 8, p. 1131-1140, 2009.
- MCCREADY, R. M.; MCCOMB, E. A. Extraction and determination of total pectic materials in fruits. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 24, n. 12, p. 1986-1988, 1952.
- NELSON, N. *et al.* A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 153, n. 2, p. 375-379, 1944.
- OLIVEIRA, F. E. da R. *et al.* **Qualidade de pêssegos 'Diamante' (*Prunus pérsica* (L.) Batsch) submetidos ao 1-metilciclopropeno**. 2005. 68 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.
- OLIVEIRA JUNIOR, E. N. *et al.* Alterações pós-colheita da "Fruta-de-Lobo" (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento: análises físico-químicas, químicas e enzimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 410-413, 2004.
- PAIVA, E. P.; LIMA, M. S. Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. **Revista Iberoamericana**, México, v.10, p.196-211, 2009.
- PRAVENDRA, N. *et al.* **Fruit ripening physiology, signalling and genomics**. Boston: CABI, 2014. 336 p.
- PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases: effects of pectinesterases. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 6, n. 1, p. 57-74, 1982.
- ROSLI, H. G.; CIVELLO, P. M.; MARTÍNEZ, G. A. Changes in cell wall composition of three *Fragaria x ananassa* cultivars with different softening rate during ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 42, n. 10, p. 823-831, 2004.
- SANTANA, M. T. A. *et al.* Caracterização físico-química e enzimática de uva "Patrícia" cultivada na região de Primavera do Leste-MT. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 1, p. 186-190, jan./fev. 2008.

SILVA, P. *et al.* Modificações nas atividades da poligalacturonase e pectinametilesterase em morangos armazenados a temperatura ambiente. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1953-1958, 2009. Edição especial.

SILVA, P. A. *et al.* Storage of strawberries (*Fragaria ananassa* L.) cv. 'Oso Grande', subjected to 1-MCP. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 34, n. 3, p. 353-358, 2012.

TEZOTTO-ULIANA, J. V. *et al.* Chitosan applications pre-or postharvest prolong raspberry shelf-life quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 72-77, May 2014.

VARGAS, M. *et al.* Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 164-171, Aug. 2006.

VELICKOVA, E. *et al.* Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria x ananassa*) cv Camarosa under commercial storage conditions. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 52, n. 2, p. 80-92, July 2013.