

**TRANSFORMAÇÕES BIOQUÍMICAS DO MAMÃO cv GOLDEN  
ARMAZENADO SOB REFRIGERAÇÃO EM ATMOSFERA  
CONTROLADA**

**LUCIANA KONDA DE AZEVEDO PINTO**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO- UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES**

**TRANSFORMAÇÕES BIOQUÍMICAS DO MAMÃO cv GOLDEN  
ARMAZENADO SOB REFRIGERAÇÃO EM ATMOSFERA  
CONTROLADA**

**LUCIANA KONDA DE AZEVEDO PINTO**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy  
Ribeiro, como parte das exigências para  
obtenção do título de Doutor em Produção  
Vegetal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Meire Lelis Leal Martins

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
SETEMBRO - 2009

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 056/2010

Pinto, Luciana Konda de Azevedo

Transformações bioquímicas do mamão cv. Golden Armazenado sob refrigeração em atmosfera controlada / Luciana Konda de Azevedo Pinto. – 2009.

86 f. : il.

Orientador: Meire Lelis Leal Martins

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Bibliografia: f. 72 – 83.

1. Atmosfera controlada 2. Mamão 3. Enzimas pécicas 4. Amolecimento 5. Refrigeração I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 664.804651

TRANSFORMAÇÕES BIOQUÍMICAS DO MAMÃO cv GOLDEN  
ARMAZENADO SOB REFRIGERAÇÃO EM ATMOSFERA  
CONTROLADA

**LUCIANA KONDA DE AZEVEDO PINTO**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy  
Ribeiro, como parte das exigências para  
obtenção do título de Doutor em Produção  
Vegetal.

Aprovado em 29 de Setembro de 2009.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Mayron Augusto Borges de Oliveira (D. Sc., Produção Vegetal) - EAFA

---

Prof. José Tarcísio Lima Thiébaud (D. Sc., Produção Animal) - UENF

---

Prof. Eder Dutra de Resende (D. Sc., Engenharia Química) - UENF

---

Prof<sup>a</sup>. Meire Lelis Leal Martins (Ph. D., Microbiologia) - UENF  
(Orientadora)

“...Cedo ou tarde a gente vai se encontrar  
Tenho certeza numa bem melhor....”

Dedico à memória do meu pai, Carlos Alberto e  
à do meu irmão Marcelo.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, que sempre me apoiaram ao longo dos estudos e principalmente ao meu pai que se foi antes da correção da tese;

À minha avó Sueko, aos meus tios, tias e primos que sempre me incentivaram;

Ao Tiago pelo amor, pela cumplicidade e pelo apoio e principalmente por me proporcionar a realização de um sonho, nosso filho Luca, que logo, logo estará nos nossos braços;

Aos meus sogros Ângela, Erivelton e à minha cunhada Thaís;

À minha família postiça de Viçosa: Seu Mauro, Teresinha, Consuelo, Cadão e Cristi que sempre me deram força;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pela estrutura oferecida para a condução dos experimentos;

A CAPES pela concessão da bolsa;

A Caliman pela concessão dos mamões utilizados nos experimentos;

À minha orientadora professora Meire Lélis Leal Martins pelos constantes incentivos e ambiente amigo de trabalho;

Ao professor Eder pelos conselhos e pela atenção;

Ao professor Thiébaud pela atenção e pela orientação estatística;

Aos amigos Jatinder, Talita, Gleícia e principalmente a Euzileni pelas conversas, risadas e especialmente pela amizade;

Às amigas do laboratório: Thamy, Luciana, Marcela, Silvania, Derliane, Juliana, Eliana e Fran;

Ao Professor Ricardo Bressan pela atenção e por permitir o uso da centrífuga refrigerada;

Ao Professor Marco Antônio por permitir o uso do espectrofotômetro e a Andréia que me auxiliou nas análises;

Ao Paulo, secretário do laboratório;

Aos funcionários da UENF, que tanto nos ajudam, muito obrigada.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E QUADROS.....	viii
RESUMO .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA LISTA DE FIGURAS.....	3
2.1. Mamão .....	3
2.2. Transformações bioquímicas e fisiológicas do mamão .....	4
2.3. Enzimas envolvidas no amaciamento dos frutos.....	5
2.3.1. Poligalacturonase.....	7
2.3.2. Pectina metilesterase.....	8
2.3.3. Galactosidase .....	9
2.3.4. Pectato liase.....	10
2.3.5. Celulases .....	10
2.4. Armazenamento de frutos sob condições controladas.....	10
2.4.1. Refrigeração.....	10
2.4.2. Atmosfera controlada .....	12
3. TRABALHOS .....	16
3.1. CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DAS ENZIMAS PECTINA METILESTERASE E $\beta$ -GALACOSIDASE EM MAMÃO CV. GOLDEN .....	16
RESUMO .....	16



ABSTRACT .....	17
INTRODUÇÃO .....	18
MATERIAL E MÉTODOS.....	19
1.0. Matéria-prima e preparo das amostras.....	19
2.0. Determinação da atividade de pectina metilesterase (PME) ..	19
3.0. Determinação da atividade da $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal).....	20
4.0. Caracterização parcial da PME e da $\beta$ -Gal.....	21
4.1 Efeito da temperatura na atividade e estabilidade das enzimas .....	21
4.2. Efeito do pH sobre a atividade e estabilidade das enzimas .....	21
4.3. Efeito de íons sobre a atividade das enzimas .....	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
CONCLUSÕES.....	27
AGRADECIMENTOS .....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
3.2. ATIVIDADE DAS ENZIMAS PECTIAN METILESTERASE E $\beta$ - GALACTOSIDASE DURANTE O AMADURECIMENTO DO MAMÃO ( <i>Cariaca papaya</i> L.) CV GOLDEN.....	32
RESUMO .....	32
ABSTRACT .....	33
INTRODUÇÃO .....	34
MATERIAL E MÉTODOS.....	35
1.0. Matéria-prima e preparo das amostras.....	35
2.0. Coloração da casca .....	36
3.0.Firmeza da polpa.....	36
4.0. Determinação do pH.....	36
5.0. Determinação da atividade da pectina metilesterase (PME) ..	37
6.0. Determinação da atividade da $\beta$ -galactosidade ( $\beta$ -Gal).....	38
7.0. Análise estatística.....	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
CONCLUSÃO .....	45
AGRADECIMENTOS .....	45
REFERÊNCIAS .....	45

3.3. COMPORTAMENTO DAS ENZIMAS PECTINA METILESTERASE E $\beta$ -GALACTOSIDASE EM MAMÃO CV. GOLDEN ARMAZENADO SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO .....	49
RESUMO .....	49
ABSTRACT .....	50
INTRODUÇÃO .....	50
MATERIAL E MÉTODOS.....	51
1.0. Matéria-prima.....	51
2.0. Armazenamento dos frutos.....	52
3.0. Análises físico-químicas .....	53
3.1. Coloração da casca .....	53
3.2. Firmeza da polpa .....	53
3.3. Determinação do pH do mamão .....	54
4.0. Ensaio enzimático.....	54
4.1. Pectina metilesterase .....	55
4.2. $\beta$ -galactosidase.....	56
5.0. Análise estatística.....	56
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	56
CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
4. CONCLUSÕES.....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	72
APÊNDICE .....	85

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ácido péctico.....	7
Figura 2 – Ácido pectínico.....	7

### **CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DAS ENZIMAS PECTINA METILESTERASE E $\beta$ -GALACOSIDASE EM MAMÃO CV. GOLDEN**

Figura 1. Valores de pH para atividade ótima da PME (●) e da $\beta$ -Gal (■) extraídas de mamão 'Golden'. 100% de atividade da PME = 27 nmoles de ácido galacturônico/mg de proteína e da $\beta$ -Gal = 0,0117 nmoles <i>p</i> -nitro fenol/min g do fruto .....	22
--	----

Figura 2. Temperatura ótima da PME (●) e da $\beta$ -Gal (■) extraídas de mamão 'Golden'. 100% de atividade da PME = 78 nmoles de ácido galacturônico/mg de proteína e da $\beta$ -Gal = 0,1233 nmoles <i>p</i> -nitro fenol/min g do fruto .....	24
---	----

Figura 3. Estabilidade térmica da PME (●) e da $\beta$ -Gal (■) extraídas de mamão 'Golden' e mantidas por 15 min em diferentes temperaturas. 100% de atividade da PME = 78 nmoles de ácido galacturônico/mg de proteína e da $\beta$ -Gal = 0,1233 nmoles <i>p</i> -nitro fenol/min g do fruto .....	25
---	----

Figura 4. Efeito de alguns íons (100 mM) na atividade das enzimas PME e  $\beta$ -Gal extraídas de mamão 'Golden'. 100% de atividade da PME = 72,96 nmoles de ácido galacturônico/mg de proteína e da  $\beta$ -Gal = 0,056 nmoles *p*-nitro fenol/min g do fruto .....27

### **3.2. ATIVIDADE DAS ENZIMAS PECTIAN METILESTERASE E $\beta$ -GALACTOSIDASE DURANTE O AMADURECIMENTO DO MAMÃO (*Cariaca papya* L.) CV GOLDEN**

Figura 1. Histórico da atividade da PME na polpa de mamões 'Golden' armazenados por 11 dias a 20°C e 90% UR.....39

Figura 2. Histórico da atividade da  $\beta$ -Gal na polpa de mamões 'Golden' armazenados por 11 dias a 20°C e 90% UR.....41

Figura 3. Histórico da firmeza da polpa de mamões 'Golden' armazenados 11 dias a 20°C e 90% UR .....42

Figura 4. Histórico do pH da polpa de mamões 'Golden' armazenados por 11 dias a 20°C e 90% UR .....43

Figura 5. Histórico da cor da casca de mamões 'Golden' armazenados por 11 dias a 20°C e 90% UR .....44

### **3.3. COMPORTAMENTO DAS ENZIMAS PECTINA METILESTERASE E $\beta$ -GALACTOSIDASE EM MAMÃO CV. GOLDEN ARMAZENADO SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO**

Figura 1. Divisão do mesocarpo em partes externa e interna.....54

Figura 2. Atividade da enzima  $\beta$ -Gal dos mamões 'Golden' armazenados a 1% (■), 3% (◆) e a 5% (▲) de O<sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.....57

Figura 3. Atividade da enzima $\beta$ -Gal dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente ( $\square$ ) durante 36 dias sob temperatura de 13 °C e 85-95% UR.....	58
Figura 4. Atividade da enzima PME dos mamões 'Golden' armazenados a 1% ( $\blacksquare$ ), 3% ( $\blacklozenge$ ) e a 5% ( $\blacktriangle$ ) de O <sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.....	59
Figura 5. Atividade da enzima PME dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente ( $\square$ ) durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.....	60
Figura 6. Firmeza dos mamões 'Golden' armazenados a 1% ( $\blacksquare$ ), 3% ( $\blacklozenge$ ) e a 5% ( $\blacktriangle$ ) de O <sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.....	61
Figura 7. Firmeza dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente ( $\square$ ) durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95%UR.....	62
Figura 8. Valores de pH dos mamões 'Golden' armazenados a 1% ( $\blacksquare$ ), 3% ( $\blacklozenge$ ) e a 5% ( $\blacktriangle$ ) de O <sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.....	63
Figura 9. pH dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente ( $\square$ ) durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.....	64
Figura 10. Ângulo <i>hue</i> dos mamões 'Golden' armazenados a 1% ( $\blacksquare$ ), 3% ( $\blacklozenge$ ) e a 5% ( $\blacktriangle$ ) de O <sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.....	65
Figura 11. Ângulo <i>hue</i> dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente ( $\square$ ) durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.....	66

## RESUMO

PINTO, Luciana Konda de Azevedo; DSc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Setembro de 2009. Transformações bioquímicas do mamão cv. Golden armazenado sob refrigeração em atmosfera controlada. Professor Orientador: Meire Lelis Leal Martins. Professor Co-Orientador: Eder Dutra de Resende.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro com o objetivo de determinar as principais propriedades das enzimas pectina metilesterase (PME) e  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal) em mamão cv. Golden, bem como estudar a influência das mesmas no processo de amolecimento destes frutos. O valor do pH e da temperatura para atividade ótima da PME foi de 7,5 e 80°C, respectivamente. Já para a  $\beta$ -Gal, o valor de pH para atividade ótima da enzima foi de 4,5, enquanto que a temperatura ótima foi de 55°C. Nenhum dos íons investigados estimulou a atividade das enzimas, sugerindo que as mesmas não requerem nenhum íon específico para a atividade catalítica. Para avaliar o comportamento das enzimas PME e  $\beta$ -Gal durante o amadurecimento do mamão cv Golden, frutos com 15% de cor amarela foram estocados em câmara de refrigeração a 20°C (85-95% UR) por um período de 12 dias. Durante este período de estocagem foi determinada a cor da casca, firmeza e pH da polpa dos frutos, bem como a atividade das enzimas PME e  $\beta$ -Gal. A PME foi mais efetiva no início do amadurecimento. Já a  $\beta$ -Gal foi mais efetiva no período intermediário e final do amadurecimento. Uma queda acentuada da firmeza e do pH da polpa ocorreu após os três primeiros dias

de armazenamento. Neste período também, os frutos apresentaram valores do ângulo *hue* próximos de 80, que corresponde a uma coloração amarela da casca. O comportamento das enzimas PME e  $\beta$ -Gal durante o amadurecimento do mamão cv Golden estocado a 13°C em diferentes concentrações de O<sub>2</sub> foi também estudado. Os frutos foram mantidos por 36 dias nas seguintes atmosferas controladas: 1% de O<sub>2</sub> e 0,03% de CO<sub>2</sub> com adsorvedor de etileno, 3% de O<sub>2</sub> e 0,03% de CO<sub>2</sub> com adsorvedor de etileno, 5% O<sub>2</sub> e 0,03% de O<sub>2</sub> com adsorvedor de etileno, atmosfera ambiente (21% de O<sub>2</sub> e 0.01% de CO<sub>2</sub>). A UR foi mantida a 85-95%. Além da atividade das enzimas foram avaliadas a coloração da casca, o pH e a firmeza da polpa dos mamões. Os frutos estocados sob atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> e 0,03% CO<sub>2</sub> apresentaram um atraso nas atividades das enzimas  $\beta$ -galactosidaase e pectina metilesterase comparado com os frutos estocados nas outras atmosferas avaliadas. Nestas mesmas condições foi observada uma menor redução da firmeza dos frutos e um atraso no aparecimento da cor amarela da casca.

## ABSTRACT

PINTO, Luciana Konda de Azevedo; DSc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, September, 2009; Biochemical changes in papaya cv. Golden stored under refrigeration and in controlled atmosphere Supervisor: Meire Lelis Leal Martins. Co-supervisor: Eder Dutra de Resende.

This work was carried out with the objective to determine the properties of enzymes PME and  $\beta$ -GAL extracted from papaya 'Golden' as well to investigate the influence of these enzymes on the fruit ripening. Optimum pH of the PME enzyme was 7.5. The enzyme maintained around 80% of its activity at pH 8.5 and the pH values below 4.5 the enzyme was inactivated. For the  $\beta$ -GAL, the optimum pH was 4.5. At pH 3.0 the enzyme lost around 60% of its activity and pH 8.5 the enzyme was inactivated. The  $\beta$ -GAL showed increased activity when incubated at temperatures of 5 to 55°C, when then presented their maximum activity. The enzyme maintained its activity for 15 minutes when incubated at temperatures of up to 40°C. For PME, the optimum temperature for reaction was 80°C. When incubated for 15 min at 60°C, this enzyme remained around 87% of its activity. However, its activity has dropped dramatically when incubated at 65°C in the same period of time. Finally, none of ions that were investigated in concentration 100 mM, stimulated the activity of enzymes, suggesting that they do not require any specific ion for the catalytic activity. In order to to investigate the behavior of the enzymes pectinmethylesterase (PME) and  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal) during the ripening of the papaya 'Golden', fruits with 15% of yellow peel color were stored in a chamber (CLIMASUL) at 20°C (90-92% RH) for 11 days. During this stored



period was determined the skin color, pulp firmness and pH. The profile of the PME activity observed during the papaya storage showed that this enzyme participated in the hydrolyze process of the cell wall mainly at the beginning of the ripening. The  $\beta$ -Gal activity increased from the 1<sup>th</sup> day to the end of stored period where reached the maximum activity, although this increase was not gradual. A decrease in the pulp firmness and pH occurred after the 3<sup>th</sup> day of stored. In this same period, the fruits showed hue angle values around 80, which corresponds a skin yellow color. From these results, it is suggested that at the first moment the PME acts more effectively. However, the decrease in the activity of this enzyme in early periods of stored suggest that the  $\beta$ -Gal has an important role in the firmness loss in papaya cv. Golden. The effect of controlled atmospheres containing different concentration of oxygen on the profile of  $\beta$ -galactosidase and pectinmethylesterase enzymes in papaya 'Golden' was also investigated. The fruits were kept for 36 days under the following controlled atmospheres: 1% of O<sub>2</sub> and 0,03% CO<sub>2</sub> with ethylene adsorber, 3% of O<sub>2</sub> and 0.03% of CO<sub>2</sub> with ethylene adsorber, 5% O<sub>2</sub> and 0.03% of CO<sub>2</sub> with ethylene adsorber and environmental atmosphere without ethylene adsorber. Relative humidity was set at the range 85-95% and temperature maintained at 13°C. Fruit stored under atmospheres of 1% of O<sub>2</sub> and 0.03% CO<sub>2</sub> had a  $\beta$ -galactosidase and pectinmethylesterase activities delayed compared with the fruits stored under the other atmospheres evaluated. There was also, a delay in the development of color and pulp softening in fruits stored under atmospheres of 1% of O<sub>2</sub> and 0.03% O<sub>2</sub>.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil pelo seu vasto território apresenta diversas condições de clima e solo que possibilitam o desenvolvimento das mais variadas espécies vegetais de interesse econômico, especialmente as frutícolas, normalmente consumidas pelo homem. Dentre as frutas de interesse econômico o mamão merece destaque por ser uma das frutas mais consumidas pelos brasileiros (Amaro et al., 2009), além disso, o país é o maior produtor mundial e o terceiro maior exportador da fruta (Costa et al., 2005).

Infelizmente, a carência de conhecimentos sobre o comportamento pós-colheita põe em risco grandes volumes de frutas devido à facilidade com que se deterioram e reduzem seu valor nutritivo, quando mantidas em condições inadequadas de conservação.

A refrigeração e o armazenamento em atmosfera controlada ou modificada são métodos empregados para a conservação de frutas. Eles permitem a redução da concentração de  $O_2$  e o aumento da concentração de  $CO_2$ , que retardam o amadurecimento dos frutos (Lana e Finger, 2000), alteram o metabolismo de pigmentos (Beaudry, 1999), reduzem a síntese e a ação do etileno sobre o metabolismo dos frutos e reduzem a ocorrência de podridões (Ke et al., 1991). Segundo Lana e Finger (2000), os níveis mínimos de  $O_2$  e máximos de  $CO_2$  são limitados pela sensibilidade dos tecidos à indução da respiração anaeróbica e injúria por  $CO_2$ , respectivamente, sendo variável de acordo com a cultivar. Cada cultivar tem uma exigência diferenciada de temperatura e

atmosfera, estas devem ser armazenadas em atmosfera controlada conforme sua tolerância (Bender e Brecht, 2000). As recomendações encontradas em bibliografia estrangeira não satisfazem as necessidades nacionais para a conservação e armazenamento de frutas perecíveis.

No mamão, como na maioria dos frutos, o amadurecimento é marcado por modificações texturais, associados ao metabolismo de carboidratos da parede celular, que culminam com a redução da sua firmeza. As substâncias pécticas constituem uma classe de polissacarídeos estruturais da parede celular, que sofrem as mais marcantes modificações durante o amadurecimento dos frutos. Mudanças em pectinas, associadas ao amadurecimento, têm sido extensivamente documentadas; a solubilização e despolimerização das substâncias pécticas, normalmente acompanham o amaciamento dos frutos durante o seu amadurecimento (Huber, 1983, Brummell e Labavitch, 1997). Várias enzimas, conhecidas como pectinases ou enzimas pectinólíticas, degradam as substâncias pécticas.

Neste contexto, este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o comportamento das enzimas  $\beta$ -galactosidase e pectina metilesterase em frutos de mamoeiro 'Golden' armazenados em diferentes concentrações de O<sub>2</sub>. Além disso, investigou algumas propriedades das enzimas, como a temperatura e o pH para atividade ótima.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Mamão

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) não tem seu centro de origem precisamente determinado, porém Badillo (1971) afirmou que o centro de origem é o noroeste da América do Sul, aonde se encontra o centro de origem de outras espécies do mesmo gênero. O mamão pertence à classe *Dicotyledoneae*, subclasse *Archichlamydeae*, ordem *Violales*, subordem *Caricineae*, família *Caricaceae*, e gênero *Carica*.

A espécie *Carica papaya* L. possui plantas dióicas, monóicas ou hermafroditas, de crescimento rápido, geralmente de 3,00 a 8,00 m de altura, caule em torno de 0,20 m de diâmetro. O fruto pode ser ovóide, esférico ou periforme de polpa amarela, alaranjada, ou avermelhada (Martins e Costa, 2003). Conforme o tamanho e a origem, os frutos podem ser classificados em dois grupos distintos, Solo e Formosa.

A cultura comercial do mamoeiro teve grande impulso a partir de 1977, com a introdução do mamoeiro do grupo Solo cujos frutos são pequenos, de polpa firme, cor vermelha e sabor agradável. Nas plantas hermafroditas, os frutos têm formato periforme e são preferidos pelos consumidores e exportadores. Do grupo Solo destacam-se as 'Sunrise Solo' e 'Improved Sunrise Solo line 72/12' e 'Baixinho de Santa Amália' e recentemente a 'Golden' originária de uma mutação natural de plantas 'Sunrise Solo'. Em virtude da maior exigência do mercado

externo as cultivares 'Sunrise Solo' e 'Improved Sunrise Solo', que são muito suscetíveis à mancha fisiológica, estão sendo substituídas pela 'Golden', que aparentemente é mais tolerante à mancha fisiológica. A mancha fisiológica tem sido mencionada na literatura como uma desordem de causa desconhecida. A variedade Golden possui amarelecimento mais uniforme e maior brilho na casca, polpa laranja e aparentemente vida útil menor do que o 'Sunrise' (Fonseca 2002; Oliveira, 2002).

Os frutos do grupo Formosa são alongados e maiores com peso médio entre 600 e 900 g, os híbridos 'Tainung' são os mais plantados. A produção dos frutos pertencentes a esse grupo está voltada ao mercado interno, enquanto os mamões do grupo Solo se destinam tanto ao mercado interno como ao externo (Amaro et al., 2009).

O Brasil é o maior produtor mundial de mamão. Em 2005 a produção foi de 1,715 mil toneladas (IBGE, 2005), sendo que o sul da Bahia e o norte do Espírito Santo são as maiores regiões produtoras brasileiras, somando 70,3% da produção nacional (Souza, 2007). A maior parte da produção é destinada ao mercado interno.

O país mesmo sendo responsável pela maior produção mundial de mamão exporta apenas 1,78% do total que produz. Mesmo com este baixo percentual de exportação em relação ao volume produzido, nos últimos anos as exportações vêm aumentando, em 1999 eram 15,7 mil toneladas, passando em 2002, para 28,5 mil toneladas. Neste mesmo período, o valor exportado saltou de US\$ 13,57 milhões para US\$ 21,62 milhões (Costa et al., 2005). Em 2007, segundo a Secretaria de Comércio /exterior (SECEX), foram exportadas 32,3 mil toneladas de mamão, tendo como principais mercados a Holanda (28%), Estados Unidos (14%) e Portugal (13%).

## **2.2. Transformações bioquímicas e fisiológicas do mamão**

As transformações químicas que ocorrem em frutos, após a colheita, estão direta ou indiretamente, relacionadas às atividades oxidativas e fermentativas devido a oxidações biológicas. Uma vez colhidas, as frutas passam a ter vida independente, consumindo energia advinda da oxidação dos substratos orgânicos acumulados durante o desenvolvimento. Essa oxidação consome

oxigênio atmosférico, tendo como resultado final a liberação de CO<sub>2</sub> e outros voláteis, formação de água e liberação de energia (Lana e Finger, 2000).

O mamão é um fruto climatérico com padrões típicos de respiração e de produção de etileno durante o amadurecimento. Nessa fase da ontogenia dos frutos climatéricos, a atividade respiratória atinge um máximo declinando subsequente. No climatérico, a concentração de etileno nos espaços intercelulares aumenta de forma acentuada, podendo esse aumento anteceder ou não a elevação da atividade respiratória (Chitarra e Chitarra, 2005).

Os principais carboidratos solúveis presentes no mamão são sacarose, glicose e frutose. Durante o amadurecimento a atividade da invertase (EC 3.2.1.26) aumenta, causando a quebra da sacarose em frutose e glicose (Sankat e Maharaj, 1997). Cítrico e málico são os ácidos predominantes, porém é notada a presença dos ácidos tártrico, malônico, fumárico.

O amadurecimento do mamão é marcado pelo aumento na solubilidade da pectina da parede celular e se inicia na parte mais interna do mesocarpo perto das sementes e progride para o lado externo do fruto (Sankat e Maharaj, 1997).

A solubilização da pectina devido ao aumento da atividade da pectina metilesterase (EC 3.1.1.11) parece ser uma das razões para o desenvolvimento do amolecimento associado com o amadurecimento no mamão (Paull e Chen, 1983). No fruto do mamoeiro, a atividade da poligalacturonase (EC 3.2.1.15) aumenta com a profundidade do tecido do mesocarpo e é mais alta no tecido mais interno do mesocarpo, sugerindo que a formação e ou ativação da enzima começa no tecido interno e progride para o tecido mais externo (Lazan et al., 1989). A atividade da  $\beta$ -galactosidase (EC 3.2.1.23) também aumenta durante o amadurecimento, porém, é mais alta no tecido externo do mesocarpo do que no tecido mais interno (Lazan et al., 1995).

### **2.3. Enzimas envolvidas no amaciamento dos frutos**

O processo de amolecimento é parte integrante do amadurecimento de quase todos os frutos e tem grande importância comercial devido ao fato da vida útil ser limitada, em grande parte, pelo aumento do amolecimento, que o torna mais susceptível a injúrias mecânicas e a doenças durante o manuseio pós-colheita (Bicalho et al., 2000).

O amadurecimento dos frutos envolve mudanças na organização dos polissacarídeos da pectina, hemicelulose e celulose da parede celular, que acontecem como uma série coordenada de passos (Goulao et al., 2007). A parede celular das plantas é uma estrutura altamente complexa e dinâmica composta de uma rede de hemicelulose unida por microfibrilas de celulose embebidas em uma matrix de polímeros pécticos e outras combinações menos abundantes, como fenóis, proteínas e enzimas.

No mamão, como na maioria dos frutos, o amadurecimento é marcado por modificações texturais, associadas ao metabolismo de carboidratos da parede celular, que culminam com a redução da sua firmeza. As substâncias pécticas constituem uma classe de polissacarídeos estruturais da parede celular, que sofrem as mais marcantes modificações durante o amadurecimento dos frutos. Mudanças em pectinas, associadas ao amadurecimento, têm sido extensivamente documentadas; a solubilização e despolimerização das substâncias pécticas, normalmente acompanham o amaciamento dos frutos durante o seu amadurecimento (Huber, 1983, Brummell e Labavitch, 1997).

A parede celular dos frutos é dividida em parede celular primária, parede celular secundária e lamela média. A parede celular primária está presente em células jovens e de crescimento ativo, enquanto a parede celular secundária é característica de células maduras e sem muito crescimento. A lamela média é composta por substâncias pécticas e mantém unidas as paredes primárias das células adjacentes (Hopkins, 1995; Raven et al., 1996).

As substâncias pécticas são compostas principalmente pelo polissacarídeo de ácido D-galacturônico (ácido poligalacturônico, ácido péctico), em longas cadeias com ligações  $\alpha$ -1,4, entremeadas com resíduos de raminose (ramnogalacturonana). Esses polímeros podem também apresentar curtas cadeias laterais de resíduos de D-galactose e outros açúcares. Dependendo do grau de metilação dos grupos carboxílicos dos resíduos de ácido galacturônico, esses polímeros são conhecidos como: ácido péctico (livre de radicais metila) (Figura 1) e ácido pectínico ou pectina (possui radicais metila) (Figura 2) (Uenojo e Pravenda, 2007). As substâncias pécticas são capazes de formar géis, devido às ligações entre as cadeias por meio de íons cálcio. A parte ramificada da pectina é ligada à matrix de hemicelulose e atua como uma espécie de cimento

intercelular entre as paredes primárias de células adjacentes, mantendo coesos os tecidos vegetais (Shkodina et al., 1998; Filho et al., 1995).

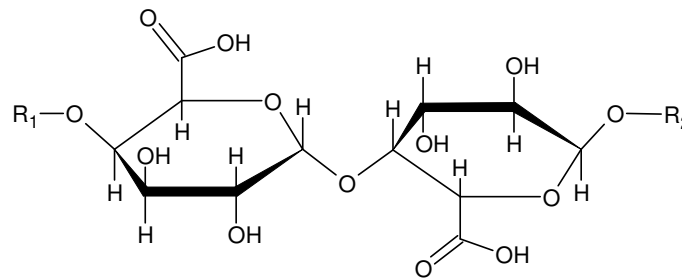


Figura 1 – Ácido péctico.

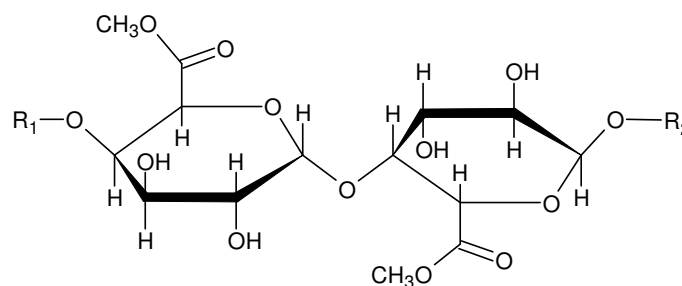


Figura 2 – Pectina (ácido pectínico).

Devido a um grande número de ligações existente na parede celular e à natureza dos polímeros, várias famílias de enzimas e suas diferentes isoformas afetam o processo do amaciamento. Tem sido proposto que as principais enzimas que atuam nos polímeros da parede celular são: poligalacturonase (PG) (endo e exo), pectina metilesterase (PME),  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal), pectato liase (PL) e celulasas (Goulao et al., 2007; Ali et al., 2004; Deng et al., 2005), alguns autores afirmam ainda a atuação de expansivas (Yashoda et al., 2007; Goulao et al., 2007), que são um grupo de proteínas extracelulares com características que afrouxam a parede celular, regulam a extensão da parede celular durante o crescimento; rompendo as pontes de hidrogênio entre celulose, microfibrilas e xiloglucanos. Elas juntamente com as enzimas pectinolíticas promovem a degradação da parede celular dos frutos (Yashoda et al., 2007).

### 2.3.1. Poligalacturonase

As poligalacturonases pertencem a enzimas despolimerizantes (hidrolases) e quebram pontes glicosídicas entre unidades de cadeia da pectina.



Elas são produzidas por inúmeros fungos e bactérias e algumas leveduras, e também freqüentemente são encontradas em muitas plantas e alguns insetos (Labib et al., 1995).

Várias enzimas, conhecidas como pectinases ou enzimas pectolíticas, degradam as substâncias pécticas. As hidrolases que exibem maior especificidade para a pectina como substrato, são denominadas metilpoligalacturonases (MEP), enquanto que as enzimas que têm maior especificidade para o ácido péctico são chamadas poligalacturonases (PG) (Pathak et al., 2000; Sarioglu et al., 2001). Se a enzima promove a degradação do substrato a partir das extremidades, liberando, portanto, monômeros, o prefixo *exo* é utilizado (Prasanna et al., 2006). Por exemplo, a hidrolase que libera somente ácido galacturônico ao degradar o ácido péctico, é designada como *exo*-poligalacturonase (*exo*-PG EC 3.2.1.67), enquanto que a enzima liberando oligômeros é chamada *endo*-poligalacturonase (*endo*-PG EC 3.2.1.15).

A endopoligalacturonase contribui mais para o amolecimento geral do fruto, pois quebra a cadeia de pectina no centro em duas moléculas com aproximadamente a metade do tamanho da molécula original (Kays, 1991), e diminui rapidamente a viscosidade de produtos processados (Pressey e Avants, 1973). A *exopoligalacturonase* aumenta a solubilidade da pectina pela remoção de resíduos terminais de ácido poligalacturônico, o que altera pouco as propriedades da molécula de pectina (Kays, 1991; Pressey e Avants, 1973).

### **2.3.2. Pectina metilesterase**

Pectina metilesterases (EC 3.1.1.11) é encontrada em todos os tecidos de plantas e alguns microrganismos. Em fungos a pectina metilesterase (PME) quebra grupos de ésteres aleatoriamente, enquanto que em plantas a PME ataca a cadeia de pectina a partir do final ou próximo a grupos de carboxilas (Labib et al., 1995).

PME promove a desmetilação da pectina através da hidrólise de radicais metila, expondo a carboxila dos ácidos galacturônicos e liberando metanol e pectina de baixa metilação (Arbaisah et al., 1996).

A hidrólise (remoção) de metil ésteres ocorre de maneira linear ao longo da molécula de pectina, deixando livres os grupos carboxílicos. Este processo não

resulta no amolecimento do fruto diretamente, mas precede a degradação da pectina pela poligalacturonase (Kays, 1991; Faria et al., 1994). Embora não modifiquem o comprimento da cadeia de pectina, a PME altera algumas das propriedades do polímero, como, por exemplo, a solubilidade, além de disponibilizar substrato para a ação das PGs.

O controle da atividade da PME, através do conhecimento da dependência de parâmetros como temperatura e pH, é de grande importância prática na indústria de alimentos para proteção e melhoria da textura e firmeza de alguns vegetais e frutas processadas (Fayyaz et al., 1995a; Sarioglu et al., 2001). De maneira geral, a PME apresenta requerimento parcial para os íons  $\text{Ca}^{+2}$  e possui pH ótimo para atividade em torno de 8,0–10,0, enquanto as galacturonases mostram-se mais ativas em pH baixo (4-5), podendo ou não ser inibidas por  $\text{Ca}^{+2}$ .

### **2.3.3. Galactosidases**

As glicosidases são uma classe de hidrolases de carboidratos que atuam em oligossacarídeos de cadeia curta que podem estar presentes em glicoproteínas e carboidratos heterômeros ou homômeros.

Entre as hidrolases a  $\beta$ -Galactosidase hidrolisa polissacarídeos ricos em galactose e pode ocorrer em um número de isoformas, porém nem todas têm a capacidade de degradar galactanos, nem a habilidade de modificar a parede celular de frutos verdes “in vitro” (Ali et al., 1998).

$\alpha$  e  $\beta$ -galactosidades ( $\alpha$ - e  $\beta$ -Gal; EC 3.2.1.22 e 3.2.1.23) e endo  $\beta$ -manase (EC 3.2.1.78) estão presentes no amadurecimento e podem ser rotas alternativas no amadurecimento dos frutos, e aparecem antes da PG (Sozzi et al., 1996).

Em frutos injuriados pelo frio ou frutos em que o amadurecimento é retardado pelo uso de atmosfera modificada ou uso de ceras a enzima  $\beta$ -galactosidase acelera o amolecimento dos frutos (Ali et al., 1995).

### **2.3.4. Pectato liase**

Pectato liase (E.C. 4.2.2.2) catalisa a clivagem de ligações  $\alpha$ -1,4 de ácido pécico de modo endo ou exo (Uenojo e Pastore, 2007). Esta enzima atua pela despolimerização poligalacturonato da parede celular na presença de íons de cálcio, destruindo a integridade dos tecidos das plantas. A atividade da pectato liase foi observada em frutas como maçã (Goulao et al., 2007), banana (Lohani et al., 2004), morango (Figuerola et al., 2008) e manga (Chourasia et al., 2006).

### **2.3.5. Celulases**

De acordo com Da Silva et al. (1997), a degradação da celulose requer um complexo enzimático de quatro enzimas. A endoglucanase (EG) (E.C. 3.2.1.4) que catalisa aleatoriamente a hidrólise das ligações internas nas regiões amorfas da molécula liberando celo-oligossacarídeos, pela ação desta enzima resulta em terminais livres para ação da exoglucanase (CBH) (E.C. 3.2.1.91), que promove a hidrólise seqüencial da segunda glicosídica a partir da extremidade não redutora, produzindo celobiose. A celobiase (E.C. 3.2.1.21) catalisa a hidrólise da celobiose e, em uma velocidade menor, degrada também pequenos oligossacarídeos, nos dois casos liberando D-glucose. A exoglucosidase (E.C. 3.2.1.74) catalisa a remoção das unidades de D-glucose a partir da extremidade não redutora da molécula.

## **2.4. Armazenamento de frutos sob condições controladas**

### **2.4.1. Refrigeração**

O armazenamento refrigerado é aquele que se processa em temperaturas entre 0°C e 15°C, ou seja, acima do ponto de congelamento da fruta, sendo o método mais econômico para o armazenamento prolongado de frutas e hortaliças. Caso a refrigeração não seja utilizada, as deteriorações são mais rápidas devido a maiores taxas respiratórias com produção de calor vital e liberação de CO<sub>2</sub>. Portanto, a temperatura de armazenamento é o fator ambiental mais importante, não só do ponto de vista comercial, como também, por regular

as taxas de todos os processos fisiológicos e bioquímicos dos produtos hortícolas (Chitarra e Chitarra, 2005).

A baixa temperatura durante o armazenamento reduz a respiração, produção e ação do etileno, perda de água; além de retardar a maturação e a senescência das frutas (Botrel e Carvalho, 1993). Em frutos climatéricos o abaixamento da temperatura retarda o pico climatérico e reduz a sua intensidade, podendo esse pico ser totalmente suprimido na temperatura próxima ao limite fisiológico de tolerância (Chitarra e Chitarra, 2005).

A intensidade do resfriamento depende da fruta, ou seja, da sua espécie e variedade, do grau de maturação, da necessidade de maturação complementar ao sair da câmara e do período de tempo de armazenamento (Nunes et al., 2006).

O melhor caminho para manter a qualidade de frutas e vegetais é indubitavelmente a manutenção na temperatura adequada da cadeia de frio após a colheita. Entretanto, a exposição do fruto à temperatura abaixo da sua faixa fisiológica aceitável altera seu metabolismo e provoca a morte das células tanto na polpa como na casca, devido à injúria pelo frio (Thé et al., 2001; Chitarra e Chitarra, 2005), chilling injury. Essa desordem conduz a diferentes sintomas, os quais reduzem a qualidade dos produtos e, conseqüentemente, sua comercialização. A temperatura e o tempo de exposição são críticos para que ocorra o desenvolvimento dos sintomas do chilling, quanto mais baixa for a temperatura e mais longo o tempo de exposição, maior será a severidade dos sintomas (Chitarra e Chitarra, 2005). Além disso, o estágio de maturação e a cultivar influenciam no desenvolvimento dos sintomas da injúria pelo frio.

Um outro problema é a flutuação da temperatura, ou baixas ou altas temperaturas, durante a colheita, transporte e comercialização dos mamões pode resultar em grandes prejuízos na qualidade, que vão desde o surgimento de doenças como podridão até perda de peso, levando a uma rejeição do produto pelo consumidor (Nunes et al., 2006).

Em geral, para o mamão, as temperaturas recomendadas para o armazenamento refrigerado, situam-se na faixa de 7°C a 13°C. Frutos de mamoeiro maduros, ou seja, ½ amarelos, podem ser armazenados a 7°C, enquanto os frutos parcialmente maduros, entre ¼ a ½ amarelos, são armazenados a 10°C, já os verdes maduros, ¼ amarelos, devem ser armazenados a 13°C (Kader, 2006). Sob temperaturas abaixo desses valores os

frutos podem manifestar as injúrias provocadas pelo frio, que se caracterizam por escaldadura na casca, áreas endurecidas na polpa ao redor dos feixes vasculares, presença de tecido com textura aquosa na polpa (Chen e Paull, 1986), atraso e desuniformidade no amadurecimento e aumento na susceptibilidade a outros patógenos de pós-colheita.

#### **2.4.2. Atmosfera controlada**

Atmosfera controlada (AC) pode ser definida como o armazenamento modificado ou controlado dos gases presentes na atmosfera do ar – CO<sub>2</sub> 0.03%, O<sub>2</sub> 21% e 78% de N<sub>2</sub>. Os níveis dos gases são monitorados periodicamente e ajustados de modo a manter-se nas condições desejadas (Zagory e Karder, 1988). Tal técnica envolve redução dos níveis de O<sub>2</sub> e ou elevação dos níveis de CO<sub>2</sub> e é utilizada para prolongar a vida útil e manter a qualidade dos produtos hortícolas (Mathooko, 1996).

Um ótimo ambiente de estocagem pode ser definido como aquele em que as condições de armazenamento conduzem a um produto de melhor qualidade e que sejam economicamente viáveis (Saltveit, 2003).

A técnica de atmosfera controlada tem como principal objetivo a redução, a um valor mínimo, das trocas gasosas relacionadas à respiração do produto. As baixas concentrações de O<sub>2</sub> e aumento de CO<sub>2</sub> no ambiente sob atmosfera controlada reduzem a síntese de etileno, diminuindo sua ação sobre o metabolismo dos frutos. O efeito da redução do O<sub>2</sub> é a inibição da cadeia respiratória, em que o O<sub>2</sub> é necessário no processo oxidativo. A ação do CO<sub>2</sub> ocorre no ciclo dos ácidos tricarbóxicos, inibindo diversas enzimas e reduzindo a atividade deste ciclo e, conseqüentemente, do metabolismo do fruto (Chitarra, 1998). Para Moreira (2000) e Tompson (1998), o maior benefício da atmosfera controlada é prevenir o início do amadurecimento e a senescência dos produtos em função da espécie do fruto, da cultivar, do estágio de maturação e das respostas fisiológicas decorrentes do etileno. De acordo com Brackmann e Chitarra (1998), para se obter o benefício da AC, o nível de O<sub>2</sub> deve ser reduzido de 1% a 3% e o nível de CO<sub>2</sub> deve ser aumentado de 3% a 15%, dependendo do produto. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), após a colheita, as frutas sofrem modificações químicas, tendo em vista a continuidade dos processos metabólicos.

O amadurecimento está relacionado com modificações complexas, entre as quais: aumento da taxa respiratória, da produção de etileno, da concentração de açúcares, solubilização de substâncias pécnicas, degradação da clorofila, aumento das concentrações de ácidos orgânicos, produção de voláteis, variações nos teores de enzimas, vitaminas, minerais e mudanças na permeabilidade dos tecidos (Zagory e Karder, 1988; Pariasca et al., 2000).

A tolerância dos produtos à baixa concentração de  $O_2$  e aos altos níveis de  $CO_2$  é afetada pela combinação cultivar, temperatura e duração da exposição (Pesis, 2005). Essas variações são devidas às diferenças nos tecidos (presença de estômatos, lenticelas, ceras e outros); volume e distribuição de espaços intercelulares e taxa respiratória (Herner, 1987). Variabilidade biológica juntamente com o desenvolvimento de novas tecnologias de estocagem e embalagens aumentam a estreita faixa dos níveis recomendáveis (Saltveit, 2003).

A maioria dos produtos de origem vegetal suporta limites máximos próximos a 5% de  $CO_2$  na atmosfera, quando esses são expostos à atmosfera com níveis superiores ao seu limite de tolerância, para uma dada combinação tempo-temperatura, causam injúrias no tecido que se manifestam como amadurecimento irregular, aumento da biossíntese de etileno, aceleração da deterioração e agravamento de outras desordens fisiológicas (Kader, 1986; Zagory e Karder, 1988). Condições que mantêm a qualidade ótima durante duas semanas podem ser prejudiciais se o produto continuar sendo armazenado por um longo período de tempo (Saltveit, 2003).

Altos níveis de  $CO_2$  e ou baixos níveis de  $O_2$  podem reduzir a taxa respiratória, síntese e ação do etileno, controlar fungos, reduzir a perda de clorofila. Entretanto, os mesmos níveis podem promover a respiração anaeróbica e o metabolismo fenólico (Saltveit, 2003), com conseqüente alteração do aroma e do sabor, devido ao acúmulo de acetaldeído e etanol (Pesis, 2005). Além disso, frutos expostos por períodos prolongados a níveis muito baixos de  $O_2$  podem perder a habilidade de atingir o pleno amadurecimento após a remoção das condições de anaerobiose parcial (Lana e Finger, 2000).

Nessas condições, a via fermentativa substitui o ciclo de Krebs como fonte primária de energia para a célula. Assim, o ácido pirúvico deixa de ser oxidado, para ser descarboxilado a acetaldeído e etanol (Taiz e Zeiger, 2004).

Larsen e Watkins (1995), observaram que morangos estocados a 24% de CO<sub>2</sub>, concentrações abaixo de 1% de O<sub>2</sub>, e ou a combinação de 10% de CO<sub>2</sub> e 2% de O<sub>2</sub> acumularam etil acetato e etanol, porém não houve acúmulo de acetaldeído.

Hansen et al. (2001) verificaram aumento na concentração de acetaldeído e etanol em brócolis, à medida que houve diminuição na concentração de O<sub>2</sub> com ou sem 20% de CO<sub>2</sub>, durante sete dias a uma temperatura de 10°C.

Imahori et al. (2002) observaram que pimentas estocadas a 0% de O<sub>2</sub> a 20°C durante o período de sete dias apresentaram aumento na concentração de acetaldeído e etanol em comparação aos tratamentos com 1% de O<sub>2</sub> ou à estocagem no ambiente. Eles observaram também aumento na atividade das enzimas piruvato descarboxilase e álcool desidrogenase.

Pesis et al. (2002) verificaram que lichias produziram maior concentração de acetaldeído e etanol quando estas foram embaladas em polietileno laminado a 1,5°C durante quatro semanas após remoção ao ambiente.

Tratamentos com altas concentrações de CO<sub>2</sub>, baixas temperaturas, exposição ao etileno, fermentos ou infecções por fungos (Lafuente et al., 2003), promovem mudanças na composição de compostos fenólicos e na atividade do complexo enzimático que leva ao escurecimento (Assis et al., 2001). Nessas condições, a atividade da enzima fenilalanina amônio liase (PAL), enzima chave na biossíntese de compostos fenólicos é induzida (Zhou et al., 2003).

O primeiro passo na rota fenilpropanóide é a conversão do aminoácido L-fenilalanina ao ácido *trans*-cinâmico pela enzima fenilalanina amônio liase (EC 4.3.1.5) (Pereyra et al., 2005). O ácido *trans*-cínamico após reações subseqüentes é então convertido em vários compostos tais como ácido clorogênico, lignina e flavonoídes (Assis et al., 2001).

Mareczek et al., (2001) verificaram que os componentes fenólicos presentes na casca da maçã da variedade *Golden Reiders* apresentaram um aumento significativo quando essas foram mantidas em 3% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub> a 0°C por sete meses.

Spalding e Reeder (1974) conservaram mamões da cv. Solo à temperatura de 18,3°C por 6 dias em atmosfera com 1% O<sub>2</sub> e 10% de CO<sub>2</sub>, observando menor desenvolvimento de doenças quando comparado com frutos

mantidos no ambiente ou em atmosfera com concentrações maiores do que 10% de CO<sub>2</sub>, porém não verificaram grande diferença em relação a vida útil após o período de conservação.

Kader (2006), recomenda para os mamões do grupo Solo, atmosferas de 3 a 5% de O<sub>2</sub> e de 5 a 8% de CO<sub>2</sub>. Já Fonseca (2002), armazenou mamões das variedades Sunrise e Golden atmosfera de 3% de O<sub>2</sub> e 6% de CO<sub>2</sub> e observou maior incidência de doenças pós-colheita, justificando que o aumento na concentração de CO<sub>2</sub> tenha provocado injúria fisiológica favorecendo a infecção dos tecidos e sua colonização.



### **3. TRABALHOS**

#### **3.1. CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DAS ENZIMAS PECTINA METILESTERASE E $\beta$ -GALACTOSIDASE EM MAMÃO CV. GOLDEN**

##### **RESUMO**

As enzimas pectina metilesterase (PME) e  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -GAL) têm um importante papel no amolecimento do mamão, associado com o amadurecimento e senescência. Desta forma, é de grande importância conhecer as suas características para a melhoria da textura e firmeza desta fruta. O objetivo deste trabalho foi investigar algumas propriedades das enzimas PME e  $\beta$ -GAL extraídas de mamão cv. Golden. O valor de pH para atividade ótima da PME foi de 7,5. No pH 8,5 a enzima manteve em torno de 80% de sua atividade e os valores de pH abaixo de 4,5 a enzima foi inativada. Já para a  $\beta$ -GAL, o valor de pH ótimo para atividade da enzima foi de 4,5. No pH 3,0 a enzima perdeu em torno de 60% de sua atividade e o pH 8,5 a enzima foi inativada. A  $\beta$ -Gal mostrou um aumento da atividade quando incubada nas temperaturas de 5 a 55°C, quando então apresentou sua maior atividade. A enzima manteve sua atividade por 15 min quando incubada a temperaturas de até 40°C. Em relação à PME, a enzima mostrou uma temperatura de reação ótima a 80° C. Quando incubada

por 15 min a 60°C, esta enzima manteve em torno de 87% de sua atividade. Entretanto, caiu drasticamente sua atividade quando incubada a 65°C no mesmo período de tempo. Finalmente, nenhum dos íons que foi investigado na concentração 100 mM, estimulou a atividade das enzimas, sugerindo que as mesmas não requerem nenhum íon específico para a atividade catalítica.

Palavras-chave: Pectina metilesterase,  $\beta$ -galactosidase, mamão, estabilidade térmica.

### ABSTRACT

The enzymes pectinmethylesterase (PME) and  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -GAL) have an important role in papaya softening associated with ripening and senescence. Thus, it is of great importance know their characteristics to improving the texture and firmness of fruit. The research aimed to investigate some properties of enzymes PME and  $\beta$ -GAL extracted from papaya. Optimum pH of the PME enzyme was 7.5. The enzyme maintained around 80% of its activity at pH 8.5 and the pH values below 4.5 the enzyme was inactivated. For the  $\beta$ -GAL, the optimum pH was 4.5. At pH 3.0 the enzyme lost around 60% of its activity and pH 8.5 the enzyme was inactivated. The  $\beta$ -GAL showed increased activity when incubated at temperatures of 5 to 55°C, when then presented their maximum activity. The enzyme maintained its activity for 15 minutes when incubated at temperatures of up to 40°C. For PME, the optimum temperature for reaction was 80°C. When incubated for 15 min at 60°C, this enzyme remained around 87% of its activity. However, its activity has dropped dramatically when incubated at 65°C in the same period of time. Finally, none of ions that were investigated in concentration 100 mM, stimulated the activity of enzymes, suggesting that they do not require any specific ion for the catalytic activity.

**Key-words:** Pectinmethylesterase,  $\beta$ -galactosidase, papaya, heat stability.

## INTRODUÇÃO

A firmeza é um importante fator de qualidade em mamão para o consumo ao natural, pois indica a tolerância do fruto ao transporte e manuseio durante a colheita e comercialização. Contudo, o mecanismo pelo qual os frutos amaciam não é completamente entendido. Tem sido sugerido que decréscimos na firmeza durante o amadurecimento de frutos ocorrem principalmente devido à mudança no metabolismo dos carboidratos da parede celular, cujos principais componentes são as substâncias pécticas (Ketsa & Daengkanit, 1999).

As substâncias pécticas são compostas principalmente pelo polissacarídeo de ácido D-galacturônico (ácido poligalacturônico, ácido péctico), em longas cadeias com ligações  $\alpha$ -1,4, entremeadas com resíduos de raminose (ramnogalacturonana). Esses polímeros podem também apresentar curtas cadeias laterais de resíduos de D-galactose e outros açúcares.

A enzima pectina metilesterase (PME; EC: 3.1.1.11), também conhecida como petinaesterase, catalisa a hidrólise do grupo metil da pectina, formando ácido péctico como um produto da reação. Esta enzima atua preferencialmente sobre o grupo metil ester de uma unidade do galacturonato próximo à unidade não esterificada. O decréscimo no grau de metilação da pectina pode, por sua vez, acionar diferentes processos relacionados à textura e firmeza das frutas (Tijskens et al., 1999; Sarioglu et al., 2001).

$\beta$ -Galactosidase (EC 3.2.1.23) é uma enzima hidrolítica que age em conjunto com as enzimas pectolíticas (poligalacturonases e PME) e pode contribuir para o amaciamento de frutos. Sua ação consiste na hidrólise dos resíduos terminais de galactosil dos galactosídeos. Muitos estudos têm mostrado que a enzima catalisa a hidrólise de resíduos de galactosil de carboidratos, glicoproteínas e galactolipídios (Esteban et al., 2005). O envolvimento da  $\beta$ -Galactosidase ( $\beta$ -Gal) na degradação dos componentes da parede celular durante o amadurecimento foi observado em uva (Deng et al., 2005), carambola (Ali et al., 2004) e mamão (Lazan et al., 2004).

A ação catalítica da PME e da  $\beta$ -Gal faz com que estas enzimas tenham um papel importante na qualidade de frutas. Portanto, o controle da atividade da PME e da  $\beta$ -Gal, através do conhecimento da dependência de parâmetros como

temperatura e pH, é de grande importância prática na indústria de alimentos para proteção e melhoria da textura e firmeza de alguns vegetais e frutas processadas.

A proposta deste trabalho é estudar algumas propriedades das enzimas  $\beta$ -Gal e PME em mamão 'Golden', a fim de criar subsídios para aplicação de tecnologias pós-colheita que visam a preservação da textura e firmeza desta fruta ou a preservação da qualidade da polpa.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1.0. Matéria-prima e preparo das amostras**

Frutos de mamoeiro 'Golden', apresentando aproximadamente 15% de cor amarela na casca (na extremidade apical) e peso médio de 500 g, foram selecionados na linha de embalagem da Caliman Agrícola S.A. (Linhares - ES), em fevereiro de 2007. Os frutos, após passarem por tratamento hidrotérmico (48°C/20 min) e banho com fungicida (2 min) foram transportados sob refrigeração até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (CCTA/UENF), onde os experimentos foram realizados.

Os frutos foram divididos transversalmente na região equatorial e posteriormente foi realizado um corte longitudinal separando o lado de fruto que ficou exposto à radiação solar durante o período de após a antese (lado exposto ao sol). As extremidades foram descartadas. As amostras foram retiradas da região externa do mesocarpo dos frutos, pesadas, embaladas em papel alumínio e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Em seguida, foram estocadas em ultra-freezer a -70°C até o seu uso.

### **2.0. Determinação da atividade da pectina metilesterase (PME)**

Para a extração da PME, 5 g da polpa de mamão foram homogeneizadas (Turrax) em 40 ml de uma solução de NaCl 1,0 M, pH 7,5 contendo 1,0% (p/v) de polivinilpirrolidona (PVPP) insolúvel. Esta solução foi centrifugada a 15.000 g durante 30 minutos em centrífuga Eppendorf, modelo 5415 C, e o sobrenadante (extrato enzimático) utilizado para a dosagem da atividade da enzima.

A atividade da PME foi determinada de acordo com o método descrito por Hagerman e Austin (1986). Para o preparo do substrato foi utilizada uma mistura de pectina cítrica (0,5% p/v) dissolvida em tampão fosfato (50 mM, pH 7,5) e azul de bromotimol, pKa 6,0, (0,01% p/v) dissolvido em tampão fosfato de potássio 3,0 mM, pH 7,5. O substrato foi então preparado, misturando-se 75 µl de azul de bromotimol para cada 1,0 ml da solução de pectina.

Para a determinação da atividade da PME, 0,8 ml do extrato enzimático foi adicionado a 2,0 ml da solução de pectina cítrica contendo o azul de bromotimol e 0,2 ml de NaCl 1 M. Esta solução foi incubada a 25°C e o decréscimo da absorbância a 620 nm em espectrofotômetro da Hitachi, modelo U 2000 (Japão), monitorada por um período de 1 minuto. Uma unidade da PME foi definida como a quantidade de enzima que libera 1 µmol de ácido galacturônico por minuto a partir da pectina cítrica nas condições do ensaio.

A concentração de proteínas foi determinada de acordo com o método descrito por Bradford (1976).

### **3.0 Determinação da atividade da β-galactosidase (β -Gal)**

Para a extração da β-Gal, amostras do mesocarpo externo do mamão foram homogeneizadas em Turratec modelo TE-102 (Brasil) em solução gelada de tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5,0, contendo 1 M de NaCl e 10% de polivinilpolipirrolidone (PVPP) durante 6 minutos a 4°C na proporção de 1:3. Após 2 horas de repouso a 4°C, a solução foi filtrada em 2 camadas de tecido de algodão e o filtrado centrifugado a 12.000 g por 20 minutos a 4°C (Vicente et al., 2005) em centrífuga modelo HERMLE Z 382 K (Wehingen, Alemanha). O sobrenadante foi dialisado durante a noite em solução tampão de acetato de sódio 50 mM, pH 4,5 para dosagem posterior da atividade da enzima.

A atividade da β-Gal foi determinada incubando 1,5 ml de p-nitrofenil-D-galactopiranosídeo (3 mM) dissolvida em 50 mM de tampão acetato de sódio pH 4,5 com 0,5 ml do extrato enzimático a 37°C, durante 20 minutos. Posteriormente, alíquotas de 0,3 ml foram retiradas e adicionadas a 1,0 ml de 0,4 M de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a fim de paralisar a reação. A coloração desenvolvida foi medida por meio de espectrofotômetro SHIMADZU UV-mini 1240, utilizando comprimento de onda de 410 nm. Uma unidade da β-Gal foi definida como a quantidade de

enzima necessária para produzir 1  $\mu\text{mol}$  de *p*-nitrofenol por minuto nas condições do ensaio.

#### **4.0 Caracterização parcial da PME e $\beta$ -Gal**

##### **4.1. Efeito da temperatura na atividade e estabilidade das enzimas**

A determinação da temperatura ótima foi realizada incubando-se a mistura de reação em temperaturas que variaram de 5 a 100°C para PME e 5 a 75°C para  $\beta$ -Gal, com intervalos de 5°C. Depois de 1 e 20 minutos de incubação para PME e  $\beta$ -Gal, respectivamente, em cada temperatura, a atividade enzimática foi analisada conforme descrito anteriormente.

A estabilidade térmica foi avaliada incubando a enzima em temperaturas que variaram de 5 a 100°C para PME e 5 a 75 °C para  $\beta$ -Gal com intervalos de 5°C por 15 minutos. Após a incubação, a atividade residual foi analisada à temperatura ótima definida anteriormente.

##### **4.2. Efeito do pH sobre a atividade e estabilidade das enzimas**

A influência do pH sobre a atividade das enzimas foi avaliada na faixa de 2,5 a 9,0 com intervalos de 0,5 unidades. Para o preparo do substrato foi utilizada uma mistura tamponante contendo glicina (pH 2,5), citrato (pH 3,0-4,5), acetato de sódio (pH 5,0-5,5), fosfato de sódio (pH 6,0-8,0), Tris (pH 8,5-9,0). Os valores do pH da mistura de reação foram ajustados com NaOH ou HCl 1N.

O pH ótimo da  $\beta$ -Gal foi determinado pela incubação de 0,5 ml do extrato enzimático e 1,5 ml de 3 mM de *p*-nitrofenil-D-galactopiranosídeo, preparado em tampão com diferentes valores de pH, a 55°C por 20 minutos. Posteriormente, a atividade enzimática foi analisada, conforme descrito anteriormente.

O pH ótimo da PME foi determinado pela incubação de 0,8 ml do extrato enzimático com 2,0 ml da solução de pectina, preparado em tampão com diferentes valores de pH, azul de bromotimol e 0,2 ml de NaCl 1 M a 80°C por 1 minuto. Posteriormente, a atividade enzimática foi analisada, conforme descrito anteriormente.

### 4.3. Efeito de íons sobre a atividade das enzimas

Para estudar o efeito de diferentes íons metálicos e de alguns compostos químicos na atividade das enzimas, os mesmos foram adicionados à mistura de reação a uma concentração final de 100 mM. A atividade enzimática residual (%) foi determinada nas condições anteriormente descritas. Um controle (ausência de metais) foi considerado como 100% de atividade. Os compostos estudados foram:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e EDTA.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

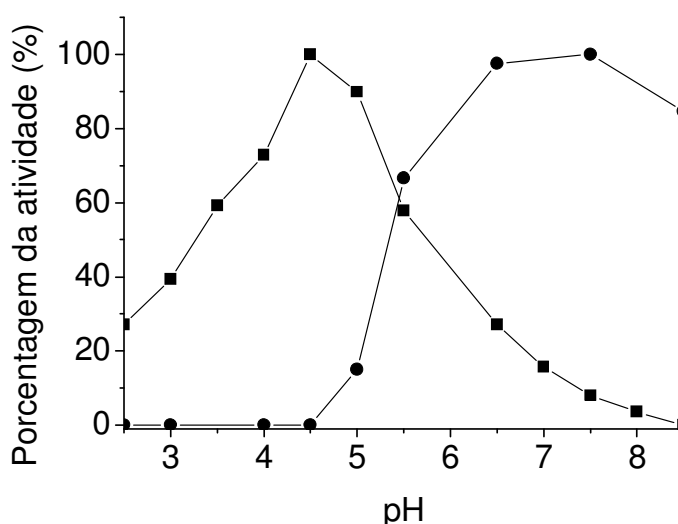


Figura 1. Valores de pH para atividade ótima da PME (●) e da  $\beta$ -Gal (■) extraídas de mamão 'Golden'. 100% de atividade da PME = 27 nmoles de ácido galacturônico/mg de proteína e da  $\beta$ -Gal = 0,0117 nmoles *p*-nitro fenol/min g do fruto.

O estudo da atividade da PME em função do pH (Figura1) mostrou que a atividade desta enzima aumenta rapidamente na faixa de pH de 5,0 para 6,5 onde manteve a atividade máxima até pH 7,5. Em pH 8,5 a enzima manteve em torno de 80% de sua atividade e para valores de pH abaixo de 4,5 a enzima foi inativada. O valor de pH para atividade ótima da PME encontrado foi o mesmo

relatado por Chang et al. (1965) para a PME extraída de mamão. Por outro lado foi menor que o valor encontrado por Lourenço & Catutani (1984) para mamão cultivar Solo. Fayyaz et al. (1995a) verificaram que a PME de *Carica papaya* variedade Exótica apresenta um expressivo incremento de atividade na faixa de pH de 5,0 até 7,0, atingindo o valor máximo em pH 8,0.

O pH para atividade ótima da PME varia entre as frutas. Em geral, a PME apresenta um valor de pH para atividade ótima em torno de 7,5 - 9,0 (Arbaisah et al., 1997; Assis et al., 2000; Assis et al., 2002; Lim & Chung, 1993). De acordo com Rillo et al. (1992), a PME extraída da laranja exibiu uma estrita dependência do pH. De fato, neste trabalho também foi observado que uma variação no pH de 6,0 para 5,5, por exemplo, produziu um decréscimo em torno 44% na atividade da enzima.

Em relação à  $\beta$ -Gal, foi verificado que o pH ótimo para atividade desta enzima foi 4,5 (Figura 1). Em pH 3,0 a enzima perdeu em torno de 60% de sua atividade e no pH 8,5 a enzima foi inativada. Barbosa et al. (2007), verificaram que a atividade da  $\beta$ -Gal, extraída de sapoti aumentou até pH 4,0, quando se observou a melhor resposta e a partir de então decresceu. Soh et al. (2006) extraíram e fracionaram  $\alpha$ -galactosidase de mamão (*Carica papaya*) em três formas,  $\alpha$ -galactosidase 1, 2 e 3, que apresentaram valores de pH para atividade ótima de 5,5, 3,0 e 3,5, respectivamente.

O comportamento “in vitro” da PME e  $\beta$ -Gal em relação ao pH mostra que a atividade destas enzimas pode ser muito alterada durante o amadurecimento do fruto. O balanço entre a produção de ácidos orgânicos e o seu consumo durante o amadurecimento é um processo-chave na regulação do pH intracelular (Davies, 1986). Quando o tecido é exposto a uma alta acidez, o malato intracelular é quebrado para produzir  $\text{OH}^-$ , o qual balanceia o pH celular. Segundo Almeida et al. (2006), o mamão ‘Golden’ apresenta um valor de pH em torno de 5,5 no início do amadurecimento, atingindo o pH 6,0 no curso do processo de amadurecimento e alcançando o pH 5,8 no final do amadurecimento. Um histórico semelhante de variação de pH do mamão ‘Golden’ foi observado por Pinto et al. (2006), com os valores de pH variando de 5,9 no início do amadurecimento e alcançando magnitudes de 6,7 na fase intermediária de amadurecimento. Verifica-se, portanto, que a atividade da enzima PME é facilitada durante o amadurecimento



do fruto, ao passo que a  $\beta$ -Gal tem sua atividade desacelerada pela variação do pH da polpa.

Ressalta-se, contudo, que a atividade enzimática *in vitro* de extratos de proteína obtidos de tecidos rompidos de frutos podem não representar a atividade real e os efeitos sobre as características da parede celular *in vivo*. Neste caso, o acesso ao substrato e/ou localização da proteína não são considerados, e os mecanismos reguladores podem ser desestruturados, resultando em uma atividade enzimática irrestrita (Arancibia & Motsenbocker, 2006).

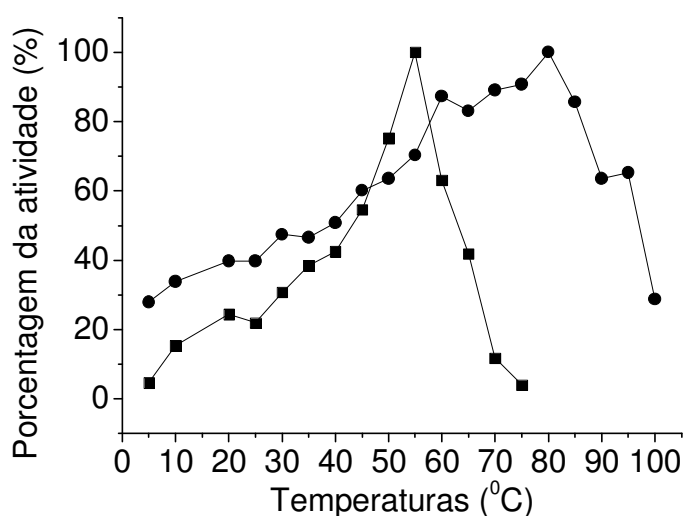


Figura 2. Temperatura ótima da PME (●) e da  $\beta$ -Gal (■) extraídas de mamão 'Golden'. 100% de atividade da PME = 78 nmoles de ácido galacturônico/mg de proteína e da  $\beta$ -Gal = 0,1233 nmoles *p*-fenol/min g do fruto.

O efeito de diferentes temperaturas na atividade da PME e da  $\beta$ -Gal do mamão está mostrado na Figura 2. A  $\beta$ -Gal mostrou um aumento da atividade quando incubada nas temperaturas de 5 até 55°C, quando então apresentou sua maior atividade. Em temperaturas acima de 55°C, a atividade decresceu sendo inativada a 80°C. O valor de temperatura para atividade ótima encontrado para a  $\beta$ -Gal do mamão foi próxima à encontrada para sapoti que foi de 60°C (Barbosa et al., 2007). Em mamão 'Ekstotika' foi reportado as temperaturas 65°C, 45°C e 35°C

como sendo as melhores para a atividade de três isoformas de  $\alpha$ -galactosidase (Soh et al., 2006).

Em relação à PME, esta enzima mostrou uma temperatura de reação ótima a 80°C (Figura 2). Dentro da faixa de temperatura estudada (5-100°C), a taxa de desesterificação parece aumentar de 5°C até 80°C, alcançando o máximo a 80°C e decrescendo após 90°C. Um aumento de mais de três vezes na taxa de reação foi observado quando a temperatura foi elevada de 5 para 80°C. Este valor de temperatura ótima foi mais alto que o encontrado para a PME de mamão variedade Solo, que foi de 60°C (Lourenço & Catutani, 1984) e mamão de outra variedade desconhecida, que foi de 35°C (Lim & Chung, 1993). Para a variedade Exótica, Fayyaz et al. (1995a) encontraram uma temperatura de reação ótima em 65°C. Esses resultados mostram que a PME de diferentes variedades de mamão, possui diferenças nas suas propriedades. Ressalta-se que na temperatura ótima de 80°C, a PME em estudo, mostrou um aumento de mais de duas vezes e meio quando comparado à temperatura do ensaio enzimático que foi de 25°C.

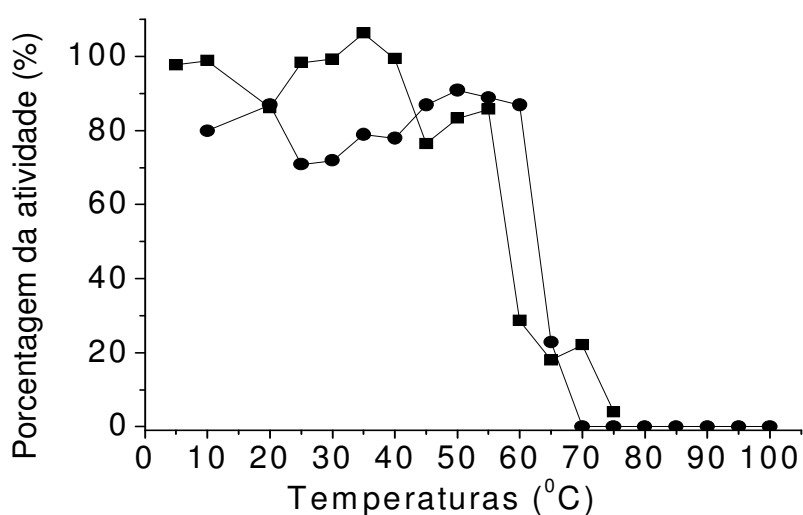


Figura 3. Estabilidade térmica da PME (●) e da  $\beta$ -Gal (■) extraídas de mamão 'Golden' e mantidas por 15 min em diferentes temperaturas. 100% de atividade da PME = 78 nmoles de ácido galacturônico/mg de proteína e da  $\beta$ -Gal = 0,1233 nmoles *p*-nitro fenol/min g do fruto.

A  $\beta$ -Gal extraída do mamão manteve sua atividade máxima por 15 min quando incubada a temperaturas de até 40°C (Figura 3). Acima deste valor a atividade residual decresceu. A 55°C a enzima manteve em torno de 80% de sua atividade e a 75°C foi completamente desnaturada. De acordo com Soh et al. (2006), três isoformas de  $\alpha$ -gal, perderam 50% de atividade quando expostas por 10 min a 55, 47 e 48°C.

A PME manteve em torno de 87% de sua atividade quando incubada a 60°C por 15 min. Entretanto, caiu drasticamente sua atividade quando incubada a 65°C no mesmo período de tempo, sendo inativada a 70°C. A PME extraída de mamão (variedade Exótica) manteve 82% da sua atividade após a incubação da mesma a 60°C por 5 min e foi completamente inativada, quando incubada a 75°C por 5 min (Fayyaz et al., 1995a). Por outro lado, a PME extraída de mamão grupo Solo manteve 50% de sua atividade após a incubação por 5 min a 65°C (Lourenço & Catutani, 1984). Pressey & Avants (1972) mostraram que a PME extraída de diferentes variedades de tomate também foram diferentes em relação à estabilidade térmica.

A inativação térmica da PME de mamão cv. Exótica para diferentes binômios de temperatura versus tempo foi investigada por Fayyaz et al. (1995b). O valor D, que representa o tempo de tratamento térmico necessário para reduzir para 10% a atividade inicial da enzima foi de 143,27; 30,79; 7,42 e 1,67 min nas temperaturas de 60, 65, 70 e 75°C, respectivamente, em meio com pH 7,5. Desta forma, a mudança de temperatura necessária para aumentar a taxa de inativação térmica em 10 vezes (valor Z) foi de 7,8°C, em pH 7,5. No presente experimento, a atividade enzimática reduziu de 83% para 20% quando incubada a 65°C por 15 min, ocorrendo inativação completa após 70°C. Verifica-se, portanto, que a PME do mamão 'Golden' é menos estável ao calor, pois apresentou 75,9% de redução da atividade inicial quando mantida a 65°C por 15 min, ao passo que a PME da variedade Exótica nas mesmas condições do ensaio apresentaria uma redução de 43,8% da atividade inicial.

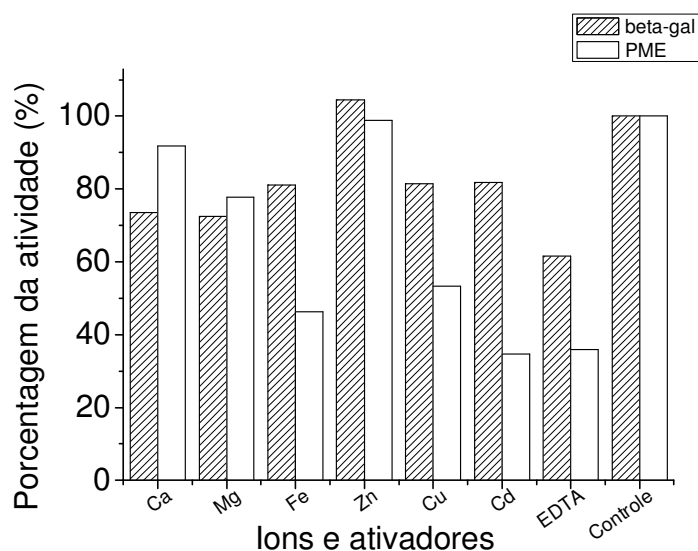


Figura 4. Efeito de alguns íons (100mM) na atividade das enzimas PME e  $\beta$ -Gal extraídas de mamão 'Golden'. 100% de atividade da PME = 72,96 nmoles de ácido galacturônico/mg de proteína e da  $\beta$ -Gal = 0,056 nmoles *p*-nitro fenol/min g do fruto.

O efeito do  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  e EDTA na atividade das enzimas PME e  $\beta$ -Gal está mostrado na Figura 4. Nenhum dos íons que foi investigado estimulou a atividade das enzimas, sugerindo que as mesmas não requerem nenhum íon específico para a atividade catalítica na concentração estudada. Entretanto, a PME foi inibida pelos íons  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  e pelo composto EDTA na concentração final de 100 mM.

A atividade da PME extraída de mamão por Lim & Chung (1993), foi mais estimulada por íons divalentes como o  $\text{Mg}^{2+}$  que por íons monovalentes como o  $\text{K}^+$ . Entretanto, o aumento na concentração dos íons, como por exemplo, do  $\text{Mg}^{2+}$ , para valores acima de 400 mM inibiu a atividade da enzima.

## CONCLUSÕES

A temperatura e o pH para a atividade ótima da pectinametilsterase extraída de mamão cv Golden são 80°C e 7,5, respectivamente. Já para a

$\beta$ -galactosidase a temperatura e o pH para a atividade ótima são 55°C e 4,5, respectivamente.

A  $\beta$ -galactosidase manteve sua atividade por 15 min quando incubada a temperaturas de até 40°C, enquanto a pectina metilesterase manteve em torno de 87% de sua atividade quando incubada por 15 min a 60°C.

As enzimas não requerem nenhum íon específico para a atividade catalítica. Entretanto, a PME foi inibida pelos íons  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  e pelo composto EDTA na concentração estudada.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a FINEP pelo apoio financeiro, a CAPES pela bolsa de pesquisa e a Empresa Caliman Agrícola S/A pela parceria de pesquisa no projeto Frutimamão.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Ali ZM, Chin L-H, Marimuthu M & Lazan H (2004) Low temperature storage and modification atmosphere packaging of carambola fruit and their effects on ripening relate texture changes, wall modifications and chilling injury symptoms. *Postharvest Biology and Technology*, 33:181-192.

Almeida RF, Resende ED, Vitorazi L, Carlos LA, Pinto LKA, Silva, HRF & Martins MLL (2006) Influence of the refrigerating temperature on the chemical characteristics of papaya fruits cv. Golden. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26:577-581.

Arancibia RA & Motsenbocker CE (2006) Pectin methylesterase activity in vivo differs from activity in vitro and enhances polygalacturonase-mediated pectin degradation in tabasco pepper. *Journal of Plant Physiology*, 163:488-496.

- Arbaisah SM, Asbi, BA, Junainah, AH & Jamilah B (1997) Purification and properties of pectinesterase from soursop (*Anona muricata*) pulp. Food Chemistry, 59:33-44.
- Assis SA, Lima DC & Oliveira OMF (2000) Acerola's pectin methylesterase studies of heat inactivation. Food Chemistry, 71:465-467.
- Assis, SA, Martins ABG, Quaguianoni DG & Oliveira OMF (2002) Partial purification and characterization of pectin methylesterase from acerola (*Malpighia glabra* L.). Journal Agricultural Food Chemistry, 50: 4103-4107.
- Barbosa GKC, Miranda, GKC & Mendes LG (2007). Estudo da beta-galactosidase da parede celular de sapoti (*Manika sapota* L. Von royen) maduro. In: 47º Congresso Brasileiro de Química/ABQ-Rio Grande do Norte. Tema: Recursos não renováveis.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72:248-254.
- Chang LWS, Morita LL & Yamamoto HY (1965) Papaya pectin methylesterase inhibition by sucrose. Journal Food Science, 30:169-175.
- Davies DD (1986) The fine control of cytosolic pH. Physiologia Plantarum, 67:702-706.
- Deng Y, Wu Y & Li Y (2005) Changes in firmness, cell wall composition and cell wall hidrolases of grape stored in high oxygen atmosphere. Food Research International, 38:769-776.
- Esteban R, Labrador E & Dopico B (2005) A family of  $\beta$ -galactosidase of vegetative tissue in *Cicer arietinum*. Plant Science, 168:457-466.

- Fayyaz A, Asbi BA, Ghazali HM, Che Man YB & Jinap S (1995a) Kinetics of papaya pectinesterase. *Food Chemistry*, 53:129-135.
- Fayyaz A, Asbi BA, Ghazali HM, Che Man YB & Jinap S (1995b) Stability studies of papaya pectinesterase. *Food Chemistry*, 53: 391-396.
- Hagerman AE & Aunstin PJ (1986) Continuous Spectrophotometric Assay for Plant Pectin Methyl Esterase. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 34:440-444.
- Ketsa S & Daengkanit T (1999) Firmness and activities of polygalacturonase, pectinesterase,  $\beta$ -galactosidase and cellulase in ripening during harvest at different stages of maturity. *Scientia Horticulturae*, 80:181-188.
- Lazan H, Ng S-Y, Goh L-Y & Ali, ZM (2004) Papaya  $\beta$ -galactosidase/galactanase isoforms in differential cell wall hydrolasis and fruit softening during ripening. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42:847-853.
- Lim, MY & Chung MCM (1993) Isolation and characterization of pectin methylesterase from papaya. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1:15-20.
- Lourenço EJ & Catutani AT (1984) Purification and properties of pectinesterase from papaya. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 35:1120-1127.
- Pinto LKA, Martins MLL, Resende ED, Almeida RF, Vitorazi L & Pereira, SMF (2006) Influence of the modified atmosphere by plastic films on the quality of papaya fruit stored under refrigeration. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26:444-451.
- Pressey R & Avants JK (1972) Multiple forms of pectinesterase in tomato. *Phytochemistry*, 11: 31339-31342.

- Rillo L, Castaldo D, Giovane A, Servillo L, Balestrieri C & Quagliuolo L (1992) Purification and properties of pectin methylesterase from mandarin orange fruit. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 40:591-593.
- Sarioglu, K, Demir N, Acar J & Mutlu M (2001) The use commercial pectinase in the fruit juice industry, part 2: Determination of kinetic behavior of immobilized commercial pectinase. *Journal of Food Engineering*, 47:271-274.
- Soh, CP, Ali ZM & Lazan H (2006) Characterization of an  $\alpha$ -galactosidase with potential relevance to ripening related texture change. *Phytochemistry*, 67:242-254.
- Tijskens LMM, Rodis PS, Hertog MLATM, Proxenia N & Dijik van C (1999) Activity of pectin methyl esterase during blanching of peaches. *Journal of Food Engineering*, 39:167-177.
- Vicente, AR, Costa, ML, Martínez, GA, Chaves, AR & Crivello PM (2005) Effect of heat treatment on cell wall degradation and softening in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 38:213-222.



### **3.2. A ATIVIDADE DAS ENZIMAS PECTINA METILESTERASE E $\beta$ -GALACTOSIDASE DURANTE O AMADURECIMENTO DO MAMÃO (*Carica papaya* L.) CV GOLDEN**

#### **RESUMO**

Este trabalho foi realizado com o objetivo de investigar o comportamento das enzimas pectina metilesterase (PME) e  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal) durante o amadurecimento do mamão 'Golden'. Mamões com 15% de cor amarela foram estocados em câmara de refrigeração (CLIMASUL) a 20°C (90-92% UR) por um período de 11 dias. Durante este período de estocagem foi determinada a cor da casca, firmeza e pH da polpa dos frutos, bem como a atividade das enzimas PME e  $\beta$ -Gal. O histórico da atividade da PME, observado ao longo do amadurecimento do mamão, indicou que esta enzima participou do processo de hidrólise da parede celular, principalmente no início do amadurecimento dos frutos. Já a atividade da  $\beta$ -Gal aumentou do primeiro dia até o final do armazenamento, onde alcançou seu valor máximo, embora este aumento não tenha sido gradual. Uma queda drástica da firmeza e do pH da polpa ocorreu após os três primeiros dias de armazenamento. Neste período também, os frutos apresentaram valores do ângulo *hue* próximos de 80, que corresponde a uma coloração amarela da casca. Diante destes resultados, sugere-se que em um primeiro momento, a PME atue de modo mais efetivo no amadurecimento do mamão, mas a queda precoce de

sua atividade indica que a  $\beta$ -Gal tem também um papel fundamental na rápida perda da firmeza do mamão cv. Golden.

**Palavras-chave:** Pectina metilesterase,  $\beta$ -galactosidase, mamão, perda de firmeza, amadurecimento.

### ABSTRACT

This work was carried out with the objective to investigate the behavior of the enzymes pectinmethylesterase (PME) and  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal) during the ripening of the papaya 'Golden'. The fruits with 15% of yellow peel color were stored in a chamber (CLIMASUL) at 20°C (90-92% RH) for 11 days. During this stored period was determined the skin color, pulp firmness and pH. The profile of the PME activity observed during the papaya storage showed that this enzyme participated in the hydrolyze process of the cell wall mainly at the beginning of the ripening. The  $\beta$ -Gal activity increased from the 1<sup>th</sup> day to the end of stored period where reached the maximum activity, although this increase was not gradual. A decrease in the pulp firmness and pH occurred after the 3<sup>th</sup> day of stored. In this same period, the fruits showed hue angle values around 80, which corresponds a skin yellow color. From these results, it is suggested that at the first moment the PME acts more effectively. However, the decrease in the activity of this enzyme in early periods of stored suggest that the  $\beta$ -Gal has an important role in the firmness loss in papaya cv. Golden.

**Key-words:** Pectinmethylesterase;  $\beta$ -Galactosidase, papaya, firmness loss, ripening

## INTRODUÇÃO

O processo de amolecimento é parte integrante do amadurecimento dos frutos e tem grande importância comercial, porque pode limitar a vida útil e tornar os frutos mais susceptíveis a injúrias mecânicas e a doenças durante o manuseio (Bicalho et al., 2000; Jacomino et al., 2002). Considerando essa alta perecibilidade, é de fundamental importância conhecer e controlar o processo de amadurecimento dos frutos.

No mamão, como na maioria dos frutos, o amadurecimento é marcado por modificações texturais, associados ao metabolismo de carboidratos da parede celular, que culminam com a redução da sua firmeza. As substâncias pécticas constituem a classe de polissacarídeos da estrutura da parede celular que sofre marcantes modificações durante o amadurecimento dos frutos. Mudanças nas pectinas, associadas ao amadurecimento, têm sido extensivamente documentadas; a solubilização e despolimerização das substâncias pécticas, normalmente acompanham o amaciamento dos frutos durante o seu amadurecimento (Huber, 1983, Brummel e Labavitch, 1997).

A maneira como os vários componentes da parede celular são modificados sugere que existem mecanismos reguladores específicos quanto à concentração e tipo das enzimas (isoformas) e ao tempo de aparecimento de tais estruturas enzimáticas (Asif e Pravendra, 2005). Em geral, os componentes da parede celular podem ser modificados durante o amadurecimento, mas o tempo, a velocidade e a extensão dessas modificações catalisadas por enzimas variam acentuadamente entre diferentes frutos.

A solubilização da pectina devido ao aumento da atividade da pectina metilesterase (EC 3.1.1.11) parece ser uma das razões para o desenvolvimento do amolecimento associado com o amadurecimento no mamão (Paull e Chen, 1983). A pectina metilesterase promove a desmetilação da pectina através da hidrólise de radicais metila, expondo a carboxila dos ácidos galacturônicos e liberando metanol e pectina de baixa metilação (Arbaisah et al., 1996). Embora não modifiquem o comprimento da cadeia de pectina, a pectina metilesterase altera algumas das propriedades do polímero, como, por exemplo, a solubilidade, além de disponibilizar substrato para a ação de outras enzimas.

As galactosidases estão presentes durante o amadurecimento de frutos e podem ser rotas alternativas durante esse processo (Sozzi et al., 1996).  $\beta$ -galactosidase (EC 3.2.1.23) é uma enzima hidrolítica que age em conjunto com as enzimas pectolíticas (poligalacturonase e PME) e pode contribuir para o amaciamento de frutos. Sua ação consiste na hidrólise dos resíduos terminais de galactosil dos galactosídeos. Muitos estudos têm mostrado que a enzima catalisa a hidrólise de resíduos de galactosil de carboidratos, glicoproteínas e galactolipídios (Esteban et al., 2005).

Neste trabalho foi investigado o histórico das enzimas pectina metilesterase e  $\beta$ -galactosidase durante o amadurecimento do mamão (*Carica papaya* L.) cv. Golden, a fim de contribuir para o desenvolvimento de tecnologias que prolonguem a sua vida útil sem prejuízo da qualidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1.0. Matéria-prima e preparo das amostras

Frutos de mamoeiro cv. Golden, apresentando aproximadamente 15% de cor amarela na casca (na extremidade apical) e peso médio de 500 g, foram selecionados na linha de embalagem da Caliman Agrícola S.A. (Linhares - ES), em fevereiro de 2007. Os frutos, após passarem por tratamento hidrotérmico (48°C/20 min) e banho com fungicida (2 min) foram transportados sob refrigeração até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (CCTA/UENF), onde os experimentos foram realizados.

Os frutos foram estocados em câmara de refrigeração mantida a 20°C e 90 a 92% UR por um período de 11 dias. Em intervalos de tempo de um dia foram retirados 6 frutos para a determinação da cor da casca, firmeza, pH e atividade da PME e da  $\beta$ -Gal. Os frutos foram divididos transversalmente na região equatorial e posteriormente foi realizado um corte longitudinal separando o lado de fruto que ficou exposto à radiação solar (lado exposto ao sol) durante o período após a antese. As extremidades foram descartadas. A fim de homogeneizar as medidas, as análises foram feitas somente na parte do fruto exposta ao sol.

A coloração da casca e a firmeza da polpa foram determinadas imediatamente após cada retirada dos mamões da câmara. Para a determinação do pH e realização dos ensaios enzimáticos, amostras da região externa do mesocarpo dos frutos foram removidas, pesadas, embaladas em papel alumínio e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Em seguida, foram estocadas em ultra-freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$  até o seu uso.

## 2.0. Coloração da casca

A coloração da casca dos frutos foi determinada através do colorímetro de Hunter, Hunterlab Miniscan Spectrophotometer. As medidas foram feitas em dois pontos distintos na parte equatorial dos frutos no lado dos frutos exposto ao Sol. Na escala de Hunter, o parâmetro “a” mede variações na faixa de cor verde (sinal negativo) ao vermelho (sinal positivo) e o parâmetro “b” mede variações na faixa de cor azul (sinal negativo) ao amarelo (sinal positivo). Esses valores foram usados para calcular o ângulo *hue* ( $H^{\circ}$ ) de acordo com as fórmulas:  $H^{\circ} = \tan^{-1}(b/a)$ , quando  $a > 0$  e  $b \geq 0$ ;  $H^{\circ} = 180 + \tan^{-1}(b/a)$ , quando  $a < 0$ ;  $H^{\circ} = 360 + \tan^{-1}(b/a)$ , quando  $a > 0$  e  $b < 0$ . Onde  $H = 0^{\circ}$  equivale à cor vermelho púrpuro,  $H = 90^{\circ}$  equivale à cor amarela,  $H = 180^{\circ}$  equivale à cor verde azulado e  $H = 270^{\circ}$  a cor azul.

## 3.0. Firmeza da polpa

As medidas de firmeza da polpa foram realizadas com auxílio de um penetrômetro digital da marca Turoni, modelo 53205, com sonda de 8 mm de diâmetro. Os frutos foram partidos transversalmente na região equatorial e as medidas realizadas em dois pontos equidistantes na metade externa (mais próxima da casca) na região do fruto exposta ao sol. Os resultados representam a força em Newton necessária para penetrar 11 mm na polpa.

## 4.0. Determinação do pH

As determinações do pH da polpa dos frutos foram realizadas em solução de aproximadamente 5 g da polpa homogeneizada em Turrtec TE 102 de marca TECNAL a 25000 rpm por dois minutos e transferida para um erlenmeyer de 250 ml, com o volume completado para 150 ml com água destilada. O pH foi avaliado

usando um Medidor de pH WTW, modelo 330 SET-1, calibrado com padrões de pH 4,0 e 7,0.

### **5.0. Determinação da atividade da pectina metilesterase (PME)**

Para a extração da PME, 5 g de polpa de mamão foram homogeneizadas em Turratec TE 102 de marca TECNAL com 40 ml de uma solução de NaCl 1,0 M, pH 7,5 contendo 1,0 % (p/v) de polivinilpolipirrolidona (PVPP) insolúvel. Esta solução foi centrifugada a 15.000 g durante 30 minutos em centrífuga Eppendorf, modelo 5415 C e o sobrenadante (extrato enzimático) foi utilizado para a dosagem da atividade da enzima.

O método empregado para a determinação da atividade da PME foi baseado na troca de cor de um indicador de pH apropriado, durante a realização de catálise da enzima. À medida que as ligações ésteres da pectina foram hidrolisadas, grupos ácidos foram produzidos provocando uma redução no pH e, como conseqüência ocorreu uma alteração na cor do indicador (Hagerman e Austin, 1986). Esta mudança de cor foi monitorada de forma contínua em um espectrofotômetro Hitachi modelo U 2000.

Como substrato foi utilizado uma mistura de pectina (cítrus) e azul de bromotimol (3,3-dibromotimosulfenolftaleína), pKa 6,0. A pectina (0,5%, p/v) foi solubilizada em água destilada aquecida a 80°C sob agitação constante e posteriormente mantida em repouso até alcançar a temperatura ambiente, sendo então ajustado o pH para 7,5. A solução de azul de bromotimol 0,01% (p/v), foi preparada diluindo-se essa substância em tampão fosfato de potássio 3,0 mM, pH 7,5. O substrato foi então preparado, misturando-se 75 µl de azul de bromotimol para cada 1,0 ml da pectina.

Para a determinação da atividade da PME, 0,8 ml do extrato enzimático, corrigido a pH 7,5, foi adicionado a 2,0 ml da solução de pectina contendo o azul de bromotimol e 0,2 ml de NaCl 1 M. Esta solução foi incubada a 80°C e o decréscimo da absorbância a 620 nm monitorada por um período de 1 minuto, com leituras a intervalos de 10 segundos. As medidas foram convertidas para µmol de ácido produzido por minuto, através de uma curva de calibração, utilizando o ácido galacturônico como padrão. Uma unidade da PME foi definida como a quantidade de enzima que libera 1 µmol de ácido galacturônico por minuto a 80°C.

## 6.0. Determinação da atividade da $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal)

Para a extração da  $\beta$ -Gal, amostras do mesocarpo externo do mamão foram homogeneizadas (Turratec TE 102 de marca TECNAL) com uma solução gelada de tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5,0, contendo 1 M de NaCl e 10% de polivinilpirrolidona (PVPP) durante 6 minutos a 4°C na proporção de 1:3. Após 2 horas de repouso a 4°C, a solução foi filtrada em 2 camadas de tecido de algodão e o filtrado centrifugado a 12.000 g em centrifuga modelo HERMLE Z 382 K (Wehingen, Alemanha) por 20 minutos a 4°C (Vicente et al., 2005).

A atividade da  $\beta$ -Gal foi determinada incubando 1,5 ml de 50 mM de tampão acetato de sódio pH 4,5 contendo 3 mM de *p*-nitrofenil-D-galactopiranosídeo com 0,5 ml do extrato enzimático a 55°C, durante 20 minutos. Posteriormente, alíquotas de 0,15 ml foram retiradas e adicionadas a 1,0 ml de 0,4 M de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a fim de paralisar a reação. Uma unidade da  $\beta$ -Gal foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1  $\mu$ mol de *p*-nitrofenol por minuto por ml. Os níveis da atividade enzimática foram expressos em unidade por volume (U/ml).

## 7.0. Análise estatística

Os frutos foram selecionados segundo o método de amostragem simples ao acaso e as amostras foram dimensionadas considerando  $d = 10\%$  da média da amostra considerada e  $\alpha = 5\%$  de probabilidade.

Após o dimensionamento da amostra foram obtidos os intervalos de confiança a 95% de probabilidade, para a média da população da característica em estudo e, posteriormente, foram obtidas as equações de regressão considerando o modelo linear polinomial. Em todos os testes realizados, as conclusões foram estabelecidas ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os intervalos de confiança para as características:  $\beta$ -Gal, PME, firmeza, pH e cor, utilizando um nível de 5% de probabilidade e considerando as amostras simples ao acaso estão no quadro abaixo:

Quadro 1. Quadro dos intervalos de confiança dos mamões 'Golden' armazenados a 20°C durante 11 dias

PME	$\text{Pr} (163,29 - 10,4707 \leq \mu_{\text{PME}} \leq 163,29 + 10,4707) = 95\%$
Gal	$\text{Pr} (2,04 - 0,1069 \leq \mu_{\beta\text{-Gal}} \leq 2,04 + 0,1069) = 95\%$
Firmeza	$\text{Pr} (5,97 - 1,3667 \leq \mu_{\text{firmeza}} \leq 5,97 + 1,3667) = 95\%$
pH	$\text{Pr} (5,52 - 0,0309 \leq \mu_{\text{pH}} \leq 5,52 + 0,0309) = 95\%$
Cor	$\text{Pr} (75,75 - 2,1366 \leq \mu_{\text{cor}} \leq 75,75 + 2,1366) = 95\%$

Para a característica  $\beta$ -Gal, foram utilizados 66 frutos no total e como a amostra ideal é 27, conclui-se que a amostragem é representativa para uma população infinita de frutos considerando  $d=10\%$  da média da amostra e  $\alpha=5\%$ .

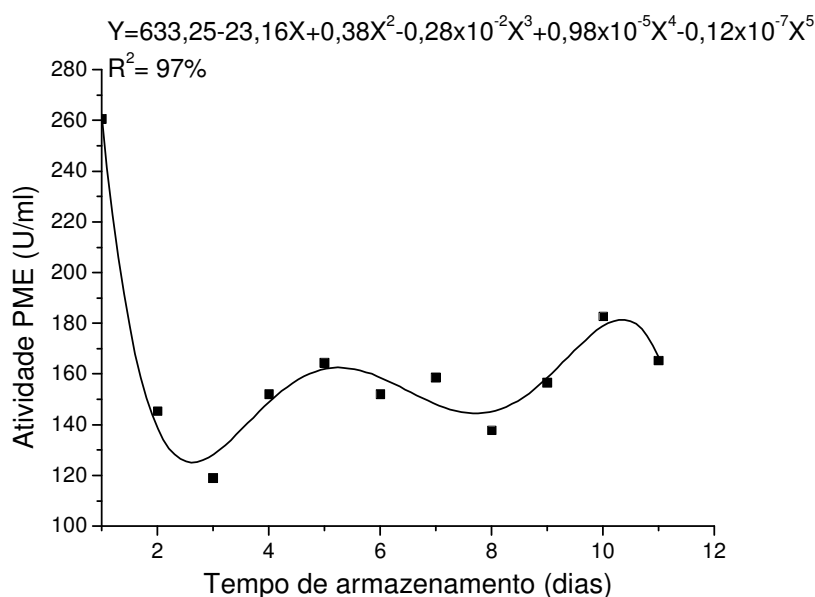


Figura 1. Histórico da atividade da PME na polpa de mamões 'Golden' armazenados por 11 dias a 20°C e 90% UR.



O histórico da atividade da pectina metilesterase (PME) durante o armazenamento do mamão por 11 dias à temperatura de 20°C está mostrado na Figura 1. Uma alta atividade da enzima foi encontrada no início do seu armazenamento e decresceu drasticamente até o segundo dia. Posteriormente a atividade desta enzima aumentou até o quinto dia de armazenamento, teve um ligeiro declínio no oitavo dia de armazenamento e então aumentou até o final do armazenamento. Resultados similares foram encontrados por Fontes et al. (2008), em que a atividade da PME em mamões cv. Sunrise Solo foi alta no primeiro dia após a colheita e reduziu gradativamente até o 4º dia, quando atingiu seu menor valor. No quinto dia a atividade aumentou, permanecendo praticamente inalterada até o oitavo dia após a colheita. Por outro lado, o comportamento da PME observado neste trabalho foi diferente daquele observado por Lazan et al. (1995), para mamões da cv. Eksotika, em que a atividade da PME aumentou gradativamente durante o amadurecimento do fruto. Os relatos na literatura sobre o histórico da atividade da PME durante o amadurecimento dos frutos são controversos. A atividade da PME pode diminuir, permanecer constante ou aumentar durante a maturação, dependendo do fruto e do método de extração. As mudanças são complicadas, ainda, pela presença de isoformas ou inibidores enzimáticos (Ali et al., 2004).

A importância da PME no amaciamento dos frutos é ampliada, quando se considera que esta enzima pode ajudar direta ou indiretamente a ação de outras, ao criar um ambiente iônico adequado, ou, possivelmente, ao modificar a porosidade da parede celular. Desta forma, favorece o acesso de outras enzimas aos seus substratos potenciais (Ali et al., 2004). Para o mamão 'Golden'. Silva et al. (2006) verificaram que a enzima poligalacturonase apresenta uma intensa atividade no início do amadurecimento dos frutos e contribui com o amaciamento da polpa. Desta forma, a expressiva atividade inicial da PME disponibilizaria substrato para a atuação da poligalacturonase.

Para a característica  $\beta$ -Gal, foram utilizados 66 frutos no total, e como a amostra ideal é 18, conclui-se que a amostragem é representativa para uma população infinita de frutos considerando  $d=10\%$  e  $\alpha=5\%$ .

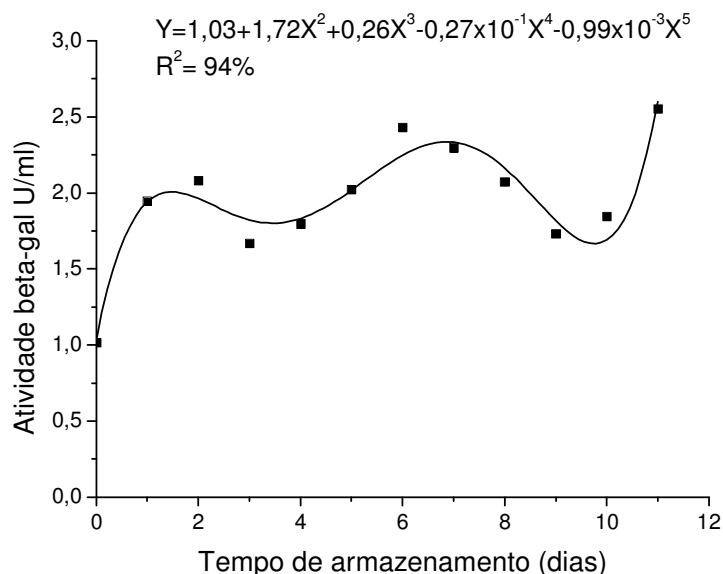


Figura 2. Histórico da atividade da  $\beta$ -Gal na polpa de mamões 'Golden' armazenados por 11 dias a 20°C e 90% UR.

A fim de verificar o comportamento da  $\beta$ -Gal simultaneamente ao da PME, a atividade desta enzima foi também determinada. As mudanças na atividade da  $\beta$ -Gal, durante o amadurecimento dos mamões, foram distintas daquelas observadas para a PME (Figura. 2). A atividade da  $\beta$ -Gal aumentou do primeiro dia até o final do armazenamento onde alcançou seu valor máximo, embora este aumento não tenha sido gradual. Um declínio da atividade da enzima foi observado no terceiro e no nono dia de armazenamento. Resultados semelhantes foram observados por Soh et al. (2006) para a  $\alpha$ -GAL, em que a atividade total desta enzima aumentou em seis vezes durante o amadurecimento do mamão. Vários autores também observaram um aumento na atividade da  $\beta$ -galactosidase durante o amadurecimento do mamão (Tateishi et al., 2007; Mwaniki et al., 2005; Lazan et al., 2004; Karakurt e Huber, 2003; Ali et al., 2004).

Já para a característica firmeza foram utilizados 66 frutos no total, e como a amostra ideal é 346, conclui-se que a amostragem não é representativa para uma população infinita de frutos considerando  $d=10\%$  e  $\alpha=5\%$ .

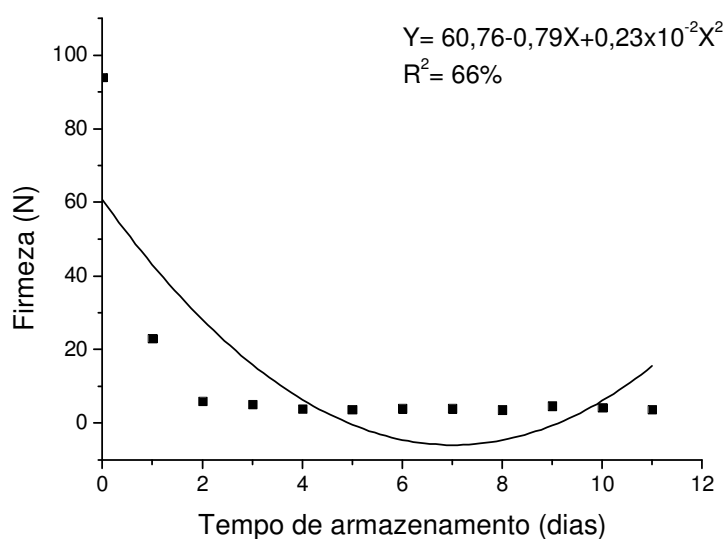


Figura 3. Histórico da firmeza da polpa de mamões 'Golden' armazenados por 11 dias a 20°C e 90 % UR.

Em relação à firmeza dos frutos, foi observada uma queda drástica deste parâmetro nos três primeiros dias de armazenamento (Figura 3). Neste período também foi observado um decréscimo da atividade da PME e aumento da atividade da  $\beta$ -Gal. Estes resultados sugerem que em um primeiro momento, a PME atue de modo mais efetivo no amadurecimento do mamão. Entretanto, a queda precoce de sua atividade sugere que a  $\beta$ -Gal tem um papel fundamental na rápida perda da firmeza do mamão cv. Golden. Segundo Gallego e Zarra (1998), a solubilização de pectinas e a liberação de resíduos galactosil, das galactanas associadas à celulose, poderiam explicar parcialmente o amaciamento. Em razão da complexidade da estrutura da parede celular, é improvável que uma enzima, em particular, seja capaz de modificá-la significativamente e responder pelo amaciamento (Ali et al., 2004). Uma ação coletiva e sinérgica de várias enzimas seria necessária, para promover mudanças texturais relevantes (Giovannoni, 2001; Mwaniki et al., 2005).

Enquanto que para a característica pH foram utilizados 66 frutos no total e como a amostra ideal é 0,21, conclui-se que a amostragem é representativa para uma população infinita de frutos considerando  $d=10\%$  e  $\alpha=5\%$ .

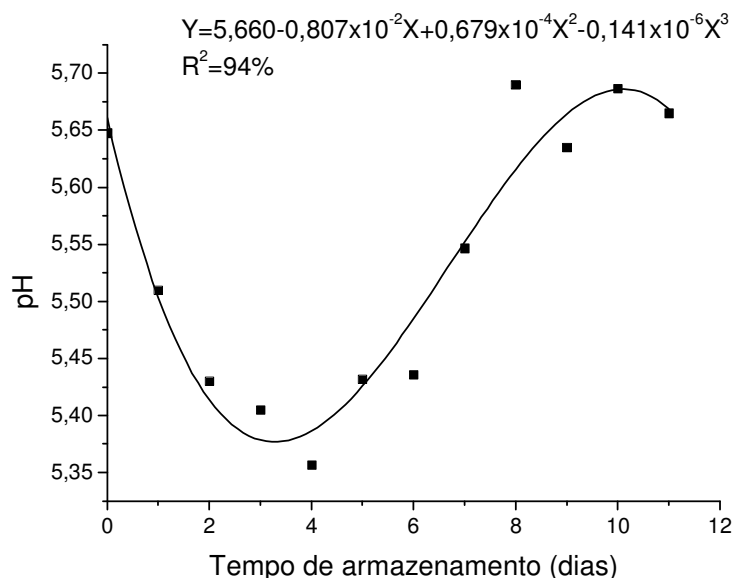


Figura 4. Histórico do pH da polpa de mamões 'Golden' armazenados por 11 dias a 20°C e 90% UR.

O histórico das medidas de pH ao longo do armazenamento dos frutos está mostrado na Fig. 4. Inicialmente houve um decréscimo nos valores do pH até o quinto dia de armazenamento, causado provavelmente, pelo aumento da concentração de ácidos orgânicos resultantes da degradação da parede celular pelas enzimas pécnicas. Segundo Draetta et al. (1975), o aumento da acidez, na polpa de frutos de mamão ao longo do seu amadurecimento, está possivelmente vinculado com a formação de ácido galacturônico, proveniente da hidrólise da pectina pela pectina metilesterase. A partir do sexto dia de armazenamento houve um aumento dos valores de pH, sugerindo que provavelmente, houve consumo dos ácidos orgânicos, já que constituem uma excelente reserva energética para o metabolismo do fruto (Chitarra e Chitarra, 2005).

E, finalmente para a característica cor foram utilizados 66 frutos no total e como a amostra ideal é 5, conclui-se que a amostragem é representativa para uma população infinita de frutos considerando  $d=10\%$  e  $\alpha=5\%$ .

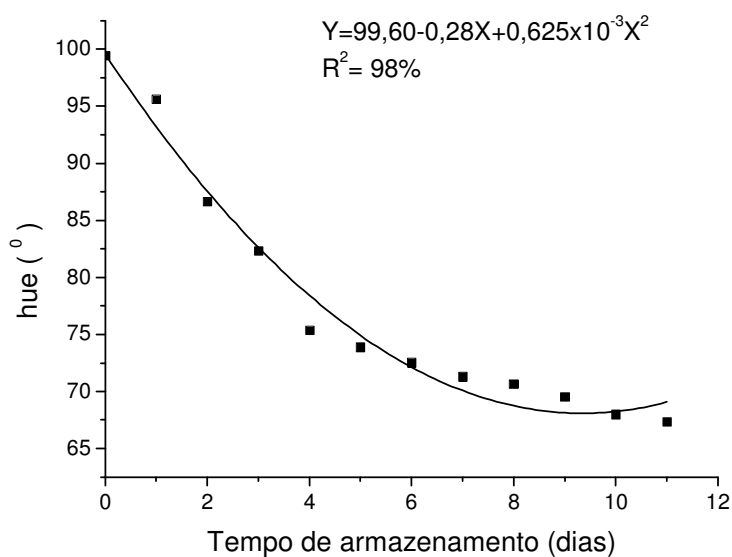


Figura 5. Histórico da cor da casca de mamões 'Golden' armazenados por 11 dias a 20 °C e 90 %UR.

Em relação à cor da casca dos frutos foi observado um decréscimo nos valores do ângulo *hue*, que estabelece os valores de 0° como roxo, 90° amarelo, 180° verde azulado e 270° azul (Fig. 5). Resultados similares foram encontrados por Hernández et al. (2006), que também observaram uma redução nos valores do ângulo *hue* durante o amadurecimento do mamão 'Baixinho de Santa Amália'.

Após três dias de armazenamento, os frutos apresentaram valores do ângulo *hue* próximos de 80, que corresponde a uma coloração amarela da casca. Neste mesmo período foi observada uma baixa firmeza da polpa do mamão e também foram encontrados os mais baixos valores de pH. A perda da cor verde resulta da quebra da estrutura de clorofila, causada principalmente pelas mudanças de pH, resultantes da presença de ácidos orgânicos provenientes do vacúolo, pela presença de sistemas oxidantes e pela atividade de clorofilases (EC 3.1.1.14) (Awad, 1993).

## CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados neste trabalho conclui-se que ambas as enzimas investigadas, pectina metilesterase e  $\beta$ -galactosidase são responsáveis pela despolimerização das substâncias pécticas e conseqüente amaciamento da polpa do mamão 'Golden' durante o amadurecimento. A pectina metilesterase é mais efetiva no início do amadurecimento e a  $\beta$ -galactosidase apresenta aumento abrupto no início do amadurecimento e maior atividade nos períodos intermediário e final do amadurecimento.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FINEP, CAPES e a Caliman Agrícola S/A.

## REFERÊNCIAS

- ALI, Z.M.; CHIN, L.; LAZAN, H.A Comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. **Plant Science**, Limerick, v.167, n. 2, p. 317-327, 2004.
- ASIF, M. H.; PRAVENDA N. Expression of multiple forms of polygalacturonase gene during ripening in banana fruit. **Plant Physiology and Biochemistry**v. 43, p. 177-184, 2005.
- ARBAISAH, Z. M.; ASBI, B. A.; JUNAINAH, A. H.; JAMILAH, B. Determination of optimum conditions for pectinesterase extraction from soursop fruit (*Anona muricata*) using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 55, n. p.289-292, 1996.

- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114p.
- BICALHO, U. O.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F.; COELHO, A. H. Modificações texturais em mamões submetidos à aplicação pós-colheita de cálcio e embalagens de PVC. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n.1, p.136-146, 2000.
- BRUMMEL, D.A.; LABAVITCH, J.M. Effect of antisense suppression of endopolygalacturonase activity on polyuronide molecular weight in ripening tomato fruit and in fruit homogenates. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 115, n.6, p. 717-725, 1997.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320p.
- DRAETTA, I. S.; SHIMOKAMI, M.; YOKOMIZO, Y.; FUJITA, J. T.; MENEZES, H. C.; BLEINORITH, E. W. Transformações bioquímicas do mamão (*Carica papaya* L.) durante a maturação. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 6, n. 3, p. 395-408, 1975.
- ESTEBAN R.; LABRADOR, E.; DOPICO B. A family of  $\beta$ -glactosidase of vegetative tissue in *Cicer arietinum*. **Plant Science**, Limerick, v. 168, n. 4, p. 457-466, 2005.
- FONTES, R. V.; SANTOS, M. P.; FALQUETO, A. R.; SILVA, D. M. Atividade da pectinametilesterase e sua relação com a perda de firmeza da polpa de mamão cv. Sunrise Solo e Tainung. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p. 54-58, 2008.
- GALLEGO, P.P.; ZARRA, I. Cell wall autolysis during kiwifruit development. **Annals of Botany**, Oxford, v.81, n.1, p.91-96, 1998.
- GIOVANNONI, J. Molecular biology of fruit maturation and ripening. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.52, p.725-749, 2001.

- HAGERMAN, A. E.; AUNSTIN, P. J. Continuous Spectrophotometric Assay for Plant Pectin Methyl Esterase. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 34, n.3, p.440-444, 1986.
- HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**, Berking, v 96, n.7, 654-664, 2006.
- HUBER, D.J. Polyuronide degradation and hemicellulose modifications in ripening tomato fruit. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.108, n.4, 405-409, 1983.
- JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A.; BRACKMANN, A.; CASTRO, P.R.C. Amadurecimento e senescência de mamão com 1-metilciclopropeno. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 303-308, 2002.
- KARAKURT, Y.; HUBER, D.J. Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.28, n.2, p.219-229, 2003.
- LAZAN, H.; SELAMAT, M.K.; ALI, Z.M.  $\beta$ -galactosidase, polygalacturonase and pectinesterase in differential softening and cell wall modification during papaya fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 95, n. 1, p. 106-112, 1995.
- LAZAN, H., NG, S. Y., GOH, L. Y., ALI, Z. M. Papaya  $\beta$ -galactosidase/galactanase isoforms in differential cell wall hydrolysis and fruit softening during ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, Oxford, v.42, n.7, 847–853, 2004.
- MWANIKI, M.W.; MATHOOKO, F.M.; MAATSUZAKI, M.; HIWASA, K.; TATEISHI, A.; USHIJIMA, K.; NAKANO, R.; INABA, A.; KUBO, Y. Expression characteristics of seven members of the  $\beta$ -galactosidase gene family in 'La France' pear (*Pyrus communis* L.) fruit during growth and their regulation by 1-



- methylcyclopropene during postharvest ripening. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.36, n.2, p.253-263, 2005.
- PAULL, R. E.; CHEN, N. J. Postharvest variation in cell wall-degradation enzymes of papaya (*Carica papaya* L.) during ripening. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 72, n.3, p. 382-385, 1983.
- SILVA, H.R.F.; RESENDE, E.D.; PINTO, L.K.A.; ALMEIDA, R. F; MARTINS, M.L.L. Atividade da enzima poligalacturonase em frutos de mamoeiro cv. Golden armazenados sob refrigeração. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.31, p. 187-191, 2006.
- SOH, C.-P.; ALI, Z.M.; LAZAN, H. Characterisation of an  $\beta$ -galactosidase with potential relevance to ripening related texture changes. **Phytochemistry**, Oxford, v.67, n.2, p.242-254, 2006.
- SOZZI, G.; CASCONI, O.; FRASCHINA, A. A. Effect of high-temperature stress on endo- $\beta$ -mannanase  $\alpha$ -and- $\beta$ galactosidase activities during tomato fruit ripening. **Postharvest biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n.1, p. 4-63, 1996.
- TATEISHI, A.; SHIBA, H.; OGIHARA, J.; ISOBE, K.; NOMURAA, K.; WATANABE, K.; INOUE, H. Differential expression and ethylene regulation of beta-galactosidase genes and isozymes isolated from avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.45, n.1, 56-65, 2007.
- VICENTE, A. R.; COSTA, M. L.; MARTINEZ, G. A.; CHAVES, A. R.; CIVELLO, P. M. Effect of heat treatments on cell wall degradation and softening in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 38, p. 213-222, 2000.

### 3.3. COMPORTAMENTO DAS ENZIMAS PECTINA METILESTERASE E $\beta$ -GALACTOSIDASE EM MAMÕES cv. GOLDEN ARMAZENADO SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO

#### RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de atmosferas controladas contendo diferentes concentrações de oxigênio sobre o comportamento das enzimas  $\beta$ -galactosidase e pectina metilesterase em mamões 'Golden'. Os frutos foram mantidos por 36 dias nas seguintes atmosferas controladas: 1% de O<sub>2</sub> e 0,03% CO<sub>2</sub> com adsorvedor de etileno, 3% de O<sub>2</sub> e 0,03% de CO<sub>2</sub> com adsorvedor de etileno, 5% O<sub>2</sub> e 0,03% de CO<sub>2</sub> com adsorvedor de etileno e atmosfera ambiente sem adsorvedor de etileno. A UR e a temperatura foram mantidas entre 85-95% e a 13° C, respectivamente. Os frutos estocados sob atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> e 0,03% CO<sub>2</sub> apresentaram um retardamento nas atividades das enzimas  $\beta$ -galactosidase e pectina metilesterase comparado com os frutos estocados nas outras atmosferas avaliadas. Os frutos armazenados sob atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> e 0,03% O<sub>2</sub> também apresentaram um atraso no desenvolvimento da cor da casca e amolecimento da polpa.

Palavras chave: *Carica papaya*, Atmosfera controlada,  $\beta$ -galactosidase, pectina metilesterase, amolecimento

## ABSTRACT

This work was carried out with the objective to evaluate the effect of controlled atmospheres containing different concentration of oxygen on the profile of  $\beta$ -galactosidase and pectinmethylesterase enzymes in papaya 'Golden'. The fruits were kept for 36 days under the following controlled atmospheres: 1% of O<sub>2</sub> and 0,03% CO<sub>2</sub> with ethylene adsorber, 3% of O<sub>2</sub> and 0,03% of CO<sub>2</sub> with ethylene adsorber, 5% O<sub>2</sub> and 0,03% of CO<sub>2</sub> with ethylene adsorber and environmental atmosphere without ethylene adsorber. Relative humidity was set at the range 85-95% and temperature maintained at 13°C. Fruit stored under atmospheres of 1% of O<sub>2</sub> and 0,03% CO<sub>2</sub> had a  $\beta$ -galactosidase and pectinmethylesterase activities delayed compared with the fruits stored under the other atmospheres evaluated. There was also, a delay in the development of color and pulp softening in fruits stored under atmospheres of 1% of O<sub>2</sub> and 0,03% O<sub>2</sub>.

Key words: *Carica papaya*, controlled atmosphere,  $\beta$ -galactosidase, pectinmethylesterase, softening

## INTRODUÇÃO

No amadurecimento dos frutos, ocorre uma série de transformações físicas, químicas e bioquímicas, dentre elas o amolecimento da polpa. Conseqüentemente, os frutos tornam-se mais susceptíveis a injúrias mecânicas e a doenças pós-colheita, levando a redução da vida útil do produto (Chitarra e Chitarra, 2005).

Durante o amolecimento ocorrem mudanças na estrutura da pectina, hemicelulose e celulose, responsáveis pelas alterações da estrutura da parede celular (Paull et al., 1999). Devido à complexidade dessa estrutura, um conjunto de enzimas é responsável pelo afrouxamento da parede celular, o que resulta no amaciamento dos frutos. Enzimas pectinolíticas, como a pectina metilesterase e as galactosidases, promovem a solubilização e a despolimerização da pectina. A

enzima pectina metilesterase (PME, EC 3:1.1.11) catalisa a hidrólise do grupo metila da pectina, formando pectina de baixa metilação e liberando metanol (Arbaisah et al., 1996); disponibilizando substrato para a ação das poligalacturoanses (PG).

A  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal, EC 3.2.1.23) é uma enzima hidrolítica que age em conjunto com as enzimas pectinolíticas (PG e PME) e pode contribuir para o amaciamento de frutos (Lima et al., 2006). Sua ação consiste na quebra das ligações cruzadas do tipo 1,4  $\beta$ -galactosídicas entre os polímeros pécnicos e de hemicelulose (Barbosa et al., 2007).

Uma forma de aumentar a vida útil dos frutos é a utilização da atmosfera controlada durante o armazenamento dos mesmos, que consiste na redução dos níveis de  $O_2$  ou elevação dos níveis de  $CO_2$ . Baixas concentrações de  $O_2$  reduz a respiração, conversão do amido, degradação da clorofila e da parede celular (Chitarra e Chitarra, 2005).

Neste contexto, este trabalho foi realizado com a finalidade de obter informações iniciais sobre o efeito da redução da concentração de  $O_2$  na atividade das enzimas  $\beta$ -Galactosidase e pectina metilesterase, durante o armazenamento do mamão cv. Golden, tendo em vista a carência de informações bioquímicas desta cultivar.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1.0 Matéria-prima

Frutos de mamoeiro cv. Golden, apresentando aproximadamente 15% de cor amarela na casca e peso médio de 500 g, foram selecionados na linha de embalagem da Caliman Agrícola S.A. (Linhares-ES). Os frutos após passaram pelo banho hidrotérmico (48°C/20min) e banho com fungicida (2 min), foram transportados sob refrigeração a 10°C, até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro. No laboratório os frutos passaram por uma solução de hipoclorito de sódio na concentração de 0,1 ml/l, antes de serem acondicionadas nas minicâmeras. Os experimentos foram realizados até 24 h após a colheita na empresa.

## 2.0 Armazenamento dos frutos

Os frutos foram armazenados em minicâmaras de atmosfera controlada (AC) com volume de 140 litros, inseridas dentro de uma câmara frigorífica de 27,45 m<sup>3</sup> regulada para uma temperatura 13°C. As minicâmaras foram conectadas por tubulações plásticas a um sistema de controle automático da concentração do oxigênio e do gás carbônico. As concentrações de CO<sub>2</sub> foram reguladas pela adsorção em tanque de solução saturada de hidróxido de sódio. O etileno foi adsorvido em coluna de permanganato de potássio. Os níveis de oxigênio foram regulados pela injeção de nitrogênio. Os frutos foram acondicionados em estantes de aço inox perfurado e após o fechamento das minicâmaras foram feitas à instalação das atmosferas investigadas, através da injeção nitrogênio (N<sub>2</sub>) até a obtenção da concentração desejada. As concentrações de O<sub>2</sub> foram obtidas pelo princípio da diluição do O<sub>2</sub>, com a injeção de nitrogênio (N<sub>2</sub>). As concentrações de CO<sub>2</sub> foram obtidas através da adsorção do CO<sub>2</sub> em tanque de solução saturada de hidróxido de sódio.

As condições de estocagem avaliadas foram: 1% de O<sub>2</sub> e 0,03% O<sub>2</sub>, com adsorvedor de etileno; 3% de O<sub>2</sub> e 0,03% de CO<sub>2</sub>, com adsorvedor; 5% O<sub>2</sub> e 0,03% de CO<sub>2</sub>, com adsorvedor e atmosfera ambiente. Para a manutenção constante das concentrações do O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, que se modificaram em função do processo respiratório dos frutos, foi realizada diariamente uma análise e correção das pressões parciais destes gases. Esta análise foi feita com um controlador automático, marca Kronenberger-Climasul. O O<sub>2</sub> consumido foi repostado através da injeção de ar atmosférico nas minicâmaras.

O CO<sub>2</sub> foi adsorvido por uma solução de hidróxido de sódio 30%, contido em um tanque hermeticamente fechado, através do qual circulavam os gases das minicâmaras. O etileno foi totalmente adsorvido do ambiente de estocagem por uma coluna de adsorção contendo permanganato de potássio, para minimizar o efeito autocatalítico que acelera o amadurecimento.

Os mamões foram armazenados por um período de 36 dias, sendo que nos primeiros 6 dias foram retirados 5 frutos por tratamento a cada 2 dias. Após esse período o intervalo passou para 6 dias. As análises realizadas nos frutos foram: coloração da casca, determinação da firmeza da polpa, pH da polpa e atividade das enzimas, pectina metilesterase e  $\beta$ -galactosidase.

### 3.0 Análises físico-químicas

Os frutos foram divididos transversalmente na região equatorial e posteriormente foi realizado um corte longitudinal separando o lado do fruto que ficou exposto à radiação solar durante o período após antese (lado exposto ao sol) e o lado que ficou voltado para o caule do mamoeiro (lado não exposto ao sol). As extremidades foram descartadas.

As análises físico-químicas e enzimáticas foram realizadas nas amostras retiradas da metade externa do mesocarpo, do lado exposto ao sol, conforme metodologia descrita por Resende et al. (2003).

### 3.1 Coloração da casca

A coloração da casca dos frutos foi determinada através do colorímetro de Hunter, modelo Hunterlab Miniscan Spectrophotometer (Oliveira, 2002). As medidas foram feitas em três pontos distintos na parte equatorial dos frutos na parte dos frutos exposta ao Sol. Esse equipamento atribui, a coloração da amostra, índices a partir de uma escala de cor. Na escala de Hunter o índice “L” mede a luminosidade variando de 0 (para amostra perfeitamente preta – mínima refletância) e 100 (para amostra perfeitamente branca – máxima refletância). O parâmetro “a” mede variações na faixa de cor verde (sinal negativo) ao vermelho (sinal positivo) e o parâmetro “b” mede variações na faixa de cor azul (sinal negativo) ao amarelo (sinal positivo). Valores de “a” e “b” iguais a zero e L = 50 equivalem à cor cinza. Esses valores foram usados para calcular o ângulo *hue* ( $H^\circ$ ) de acordo com as fórmulas:

$$H^\circ = \tan^{-1}(b/a), \text{ quando } a > 0 \text{ e } b \geq 0;$$

$$H^\circ = 180 + \tan^{-1}(b/a), \text{ quando } a < 0;$$

$$H^\circ = 360 + \tan^{-1}(b/a), \text{ quando } a > 0 \text{ e } b < 0.$$

Onde  $H = 0^\circ$  equivale à cor vermelho púrpuro,  $H = 90^\circ$  equivale à cor amarelo,  $H = 180^\circ$  equivale à cor verde azulado e  $H = 270^\circ$  a cor azul.

### 3.2 Firmeza da polpa

Para a determinação da firmeza da polpa, os frutos foram cortados ao meio na região equatorial e a parte externa e interna da polpa delimitada visualmente como mostrado na Figura 1. Três medidas da firmeza da polpa foram realizadas na parte externa do fruto com o auxílio de um penetrômetro digital,

marca Turoni, modelo 53205. Estas medidas avaliaram a resistência da polpa à penetração de uma sonda de 8 mm de diâmetro e 11 mm de profundidade, sendo expressas em Newton (N).

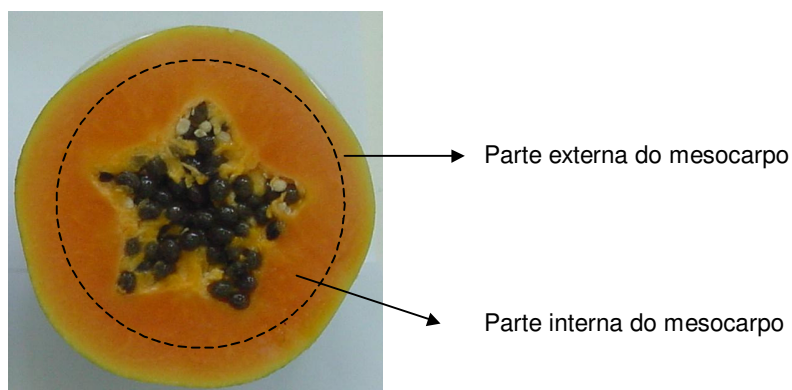


Figura 1. Divisão do mesocarpo em partes externa e interna.

### 3.3 Determinação do pH da polpa do mamão

Aproximadamente 2 gramas da amostra proveniente da polpa do fruto (parte externa do exposta ao sol) foram homogeneizadas em Turratec da marca TECANL e transferidas para um frasco Erlenmeyer de 250 ml e o volume foi completado para 150 ml com água destilada. Após a homogeneização da amostra foi realizada a leitura do pH, em potenciômetro modelo pH 330/set, calibrado com solução padrão pH 4,0 e 6,9.

### 4.0 Ensaio enzimáticos

Para a realização dos ensaios enzimáticos, amostras foram removidas da região externa do mesocarpo dos frutos do lado exposto, segundo metodologia descrita por Resende et al., (2003). As amostras dos mamões foram cortados com auxílio de um amostrador cilíndrico de diâmetro 2 cm, pesadas em balança semi-analítica Gehaka, modelo BG 2000, embaladas em papel alumínio e imediatamente congeladas em freezer vertical da marca Consul.

#### 4.1 Pectina metilesterase

A extração da PME foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Hagerman e Austin (1986). Amostras de 5 g de polpa de mamão foram homogeneizadas, utilizando o homogeneizador Turrax da marca TECANL, em 40 ml de uma solução de NaCl 1,0 M, pH 7,5 contendo 1,0% (p/v) de polivinilpirrolidona (PVPP) insolúvel. Esta solução foi centrifugada a 15.000 g durante 30 minutos em centrífuga Eppendorf, modelo 5415 C. No sobrenadante obtido foi determinada a atividade da PME.

A determinação da atividade da PME foi realizada mediante o método espectrofotométrico em que se baseia na troca de cor do indicador de pH durante a realização de catálise da PME. À medida que as ligações ésteres da pectina são hidrolisadas, grupos ácidos são produzidos provocando uma redução no pH e, como consequência ocorre uma alteração na cor do indicador. Esta mudança de cor foi monitorada de forma contínua em um espectrofotômetro Hitachi, modelo U 2000.

Como substrato foi utilizado uma mistura de pectina (cítrus) na qual se adicionou azul de bromotimol (3,3-dibromotimosulfenolftaleína). Uma quantidade de 0,5 % (p/v) da pectina foi solubilizada em água destilada aquecida a 80°C sob agitação constante. Após a solubilização, a pectina foi mantida em repouso até alcançar a temperatura ambiente, sendo então ajustado o pH para 7,5. Uma solução de azul de bromotimol 0,01% (p/v), foi preparada diluindo-se essa substância em tampão fosfato de potássio 3,0 mM, pH 7,5. O substrato foi então preparado, misturando-se 75 µl de azul de bromotimol para cada 1,0 ml da pectina de citrus.

Para a determinação da atividade da PME, 0,8 ml do extrato enzimático foi adicionado a 2,0 ml da solução de pectina contendo o azul de bromotimol e 0,2 ml de NaCl 1 M. Esta solução foi incubada a 80°C durante 1 minuto e o decréscimo da absorbância a 620 nm monitorada em um espectrofotômetro por um período de 1 minuto, com leituras a intervalos de 10 segundos. A variação da absorbância por minuto foi convertida para µmol de ácido produzido por minuto através de uma curva de calibração, utilizando o ácido galacturônico como padrão. Uma unidade da PME foi definida como a quantidade de enzima que libera 1 µmol de ácido galacturônico por minuto por volume.



## 4.2 $\beta$ -galactosidase

Para a extração da  $\beta$ -galactosidase, dez gramas da polpa foram homogeneizadas em Turraxtec da marca TECANL (Turrax) com 30 ml de solução tampão de acetato de sódio 50 mM, pH 5,0 gelado, contendo 1 M de NaCl e 10% de polivinilpolipirrolidone (PVPP) durante 6 minutos a 4°C. Após 2 horas de repouso a 4°C, esta solução foi filtrada em 2 camadas de tecido de algodão e o filtrado centrifugado em uma centrifuga refrigerada (Hermele Z 382K, Alemanha) a 15.000 g por 30 minutos a 4°C (Vicente et al., 2005).

A atividade da  $\beta$ -galactosidase foi determinada incubando 1,5 ml de 50 mM de tampão acetato de sódio pH 4,5 contendo 3 mM de *p*-nitrofenil  $\beta$ -D-galactopiranosídeo com 0,5 ml do extrato enzimático a 55°C, durante 20 minutos. A reação foi paralisada retirando alíquotas de 0,150 ml estas foram adicionadas a 1 ml de 0,4 M de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a fim de paralisar a reação. A coloração desenvolvida foi medida através de espectrofotômetro SHIMADZU UV-mini 1240 utilizando comprimento de onda de 410 nm. Uma unidade da  $\beta$ -Gal foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1  $\mu$ mol de *p*-nitrofenol por minuto por ml. Os níveis da atividade enzimática foram expressos em unidade por volume (U/ml).

## 5.0 Análise estatística

Os fatores porcentagem de O<sub>2</sub> e tempo em dias foram analisados segundo o delineamento inteiramente casualizado, ao nível de 5% de probabilidade. Posteriormente, em cada nível de O<sub>2</sub> foi feita uma regressão polinomial da característica em questão, em função do tempo em dias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da enzima  $\beta$ -Gal dos frutos de mamoeiro armazenados em atmosfera controlada a 1%, 3% e 5% de O<sub>2</sub> e atmosfera ambiente está mostrado nas Figuras 2 e Figura 3, respectivamente.

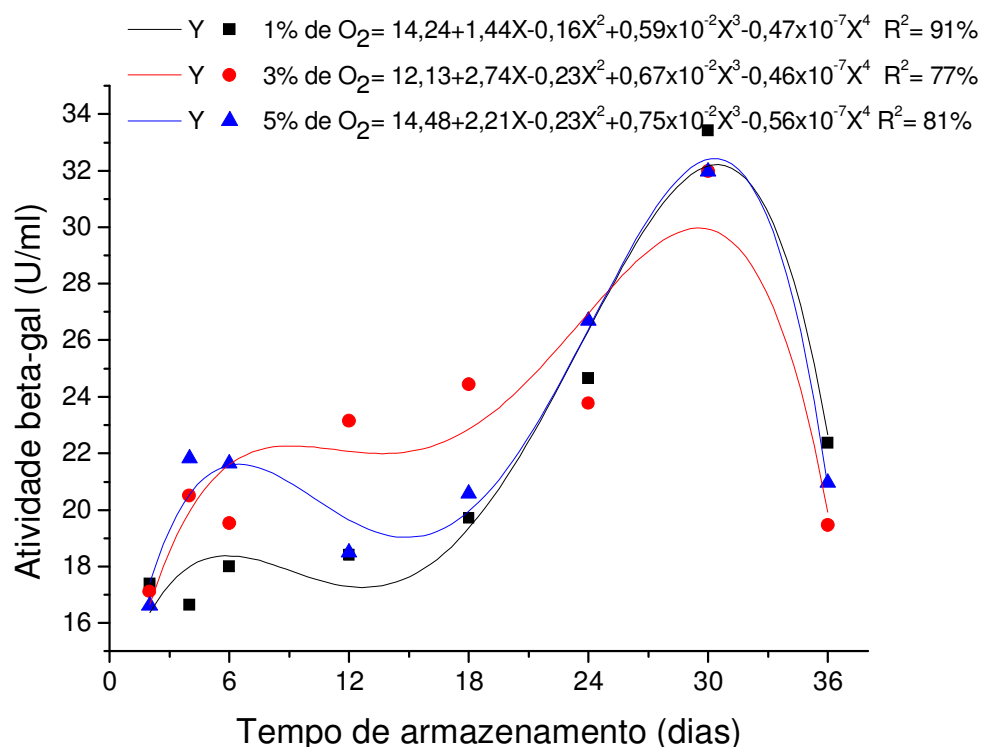


Figura 2. Efeito do tempo sobre a atividade da enzima  $\beta$ -Gal dos mamões 'Golden' armazenados a 1% (■), 3% (♦) e a 5% (▲) de O<sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.

Um aumento da atividade da  $\beta$ -Gal foi observado até o 30º dia de armazenamento para todos os tratamentos, embora esse aumento não tenha sido gradual (Figura 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Karakurt e Huber (2003), que observaram um aumento da atividade da  $\beta$ -Gal durante a estocagem de frutos de mamoeiro 'Sunrise Solo', minimamente processado e de frutos intactos mantidos à 5°C. De acordo com estes autores, a atividade da  $\beta$ -Gal nos frutos minimamente processados foi maior do que nos frutos intactos. Registros do aumento da atividade desta enzima durante o amadurecimento foi observado em graviola Lima et al (2006), pêra Mwaniki et al. (2005) e em mamão Lazan et al. (1995).

Após 30 dias de armazenamento, a atividade da  $\beta$ -Gal apresentou uma queda até o final do período da estocagem.

Os valores da atividade da  $\beta$ -Gal ao longo do período de armazenamento variaram de acordo com a concentração de O<sub>2</sub> utilizada. Nota-se que nos primeiros períodos do armazenamento (6 dias) a atividade da  $\beta$ -Gal foi maior

quando se empregou 5% de O<sub>2</sub> e menor quando uma atmosfera de 1% de CO<sub>2</sub> foi utilizada. A atividade da β-Gal foi menor na atmosfera com 1% de O<sub>2</sub> até 18 dias de estocagem. No período final do armazenamento, a maior atividade da enzima foi observada no tratamento com 1 % de O<sub>2</sub>. Estes resultados indicaram que a atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> retardou a atividade da β-Gal no início do armazenamento sem, contudo, deixar de estimular sua síntese no final do período de armazenamento. Em mamões, evidências indicam que a β-galactosidase pode contribuir significativamente na modificação da pectina e da hemicelulose, contribuindo conseqüentemente para o amolecimento do fruto (Lazan et al., 1995).

De acordo com a figura 3, O comportamento da enzima nos mamões armazenados em atmosfera ambiente foi semelhante ao encontrado para os mamões armazenados em atmosfera controlada. Um aumento da atividade enzimática foi observado até o 30º dia de armazenamento, embora o aumento não tenha sido gradual. Entre o 12º e o 18º dia de armazenamento, a atividade enzimática apresentou uma queda similar a observada nos mamões armazenados em atmosfera com 1% e 5% de O<sub>2</sub>.

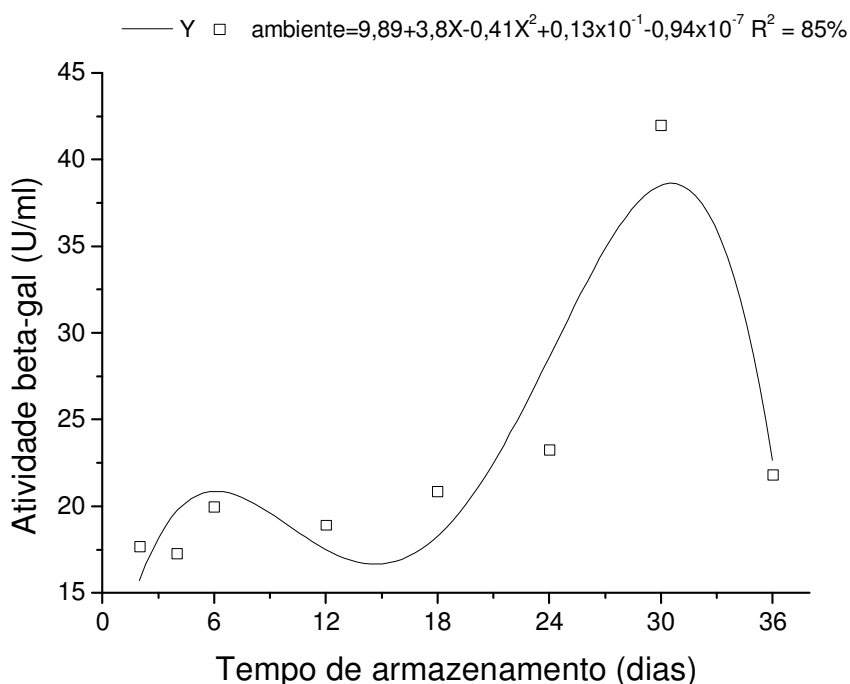


Figura 3. Atividade da enzima β-Gal dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente (□) durante 36 dias sob temperatura de 13 °C e 85-95% UR.

A atividade da enzima PME dos frutos de mamoeiro estocados em atmosfera controlada a 1%, 3% e a 5% de O<sub>2</sub> e em atmosfera ambiente está mostrado na Figura 4 e Figura 5, respectivamente

A atividade da PME dos mamões armazenados em atmosfera controlada com 1% de O<sub>2</sub> foi menor até o 18º dia de armazenamento, em comparação com as demais concentrações estudadas. Nesse tratamento a atividade da PME aumentou gradualmente até o 30º dia e então decresceu.

Um comportamento semelhante da atividade da PME foi observado para os mamões armazenados em atmosfera com 3% e 5% de O<sub>2</sub>. A atividade desta enzima aumentou até o 6º dia de armazenamento, posteriormente decresceu até o 18º dia de armazenamento e então aumentou novamente até o 30º dia e finalmente caiu. O valor máximo da atividade da PME (365,42 U/ml) foi encontrado no 30º dia de armazenamento para os mamões estocados em atmosfera de 3% de O<sub>2</sub>. Este histórico é similar àquele observado no trabalho anterior. Exceto no início do amadurecimento, isto pode ter ocorrido devido ao atraso no fechamento da microcâmeras.

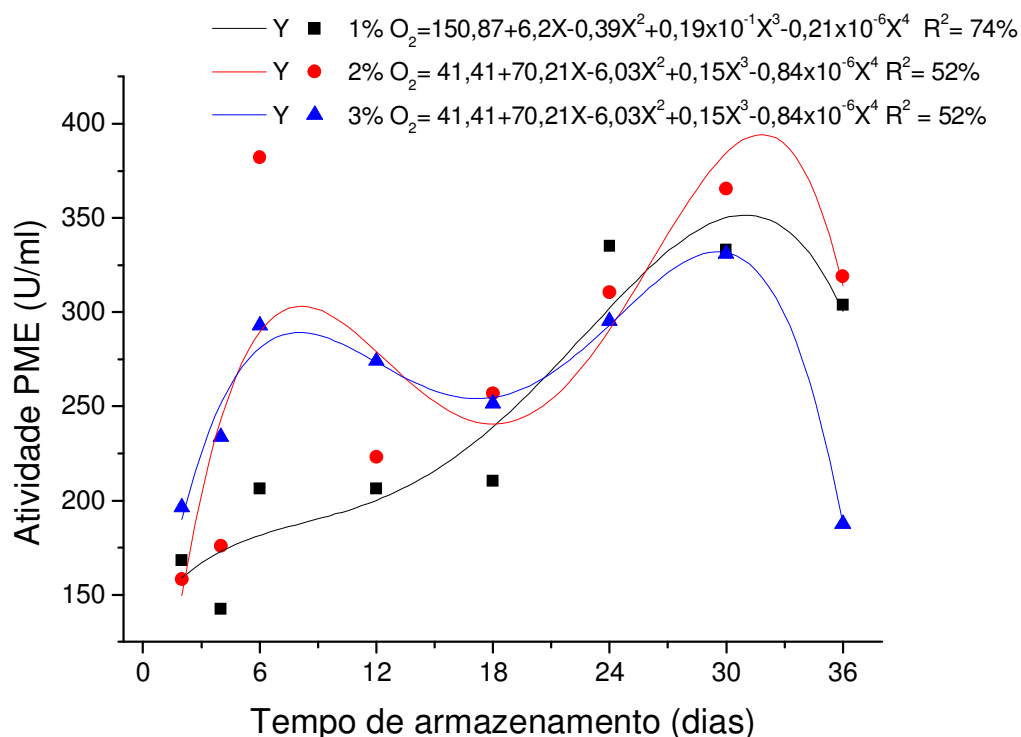


Figura 4. Atividade da enzima PME dos mamões 'Golden' armazenados a 1% (■), 3% (♦) e a 5% (▲) de O<sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.

Fonseca et al. (2006), relataram que a atividade da enzima pectina metilesterase, indiferentemente do sistema de controle da atmosfera de armazenamento utilizando a mesma temperatura 10°C, apresentou comportamento cúbico no mamão 'Sunrise Solo', com valores máximos entre o sexto e o oitavo dia de avaliação. Já para o mamão 'Golden', estes autores encontraram que a atividade da PME apresentou comportamento quadrático, com valores máximos entre o quarto e o sexto dia de avaliação.

Em uvas 'Kyoho' armazenadas nas atmosferas de 4% de O<sub>2</sub> + 9 % de CO<sub>2</sub>, 4% de O<sub>2</sub> + 30% de CO<sub>2</sub> e em atmosfera controle, foi verificado que não houve diferença na atividade da enzima PME (Deng et al., 2007). Entretanto, em maçãs 'Gala' armazenadas em atmosfera ambiente por oito meses, a atividade da PME foi menor quando comparada com as frutas armazenadas sob atmosferas de 1,0 KPa O<sub>2</sub> + 2,5 CO<sub>2</sub>, 1,0 KPa O<sub>2</sub> + 2,0 CO<sub>2</sub>, 0,8 KPa O<sub>2</sub> + 2,0 CO<sub>2</sub>, e 0,8 KPa O<sub>2</sub> + 2,5 KPa CO<sub>2</sub> (Lunardi et al., 2004). De acordo com Lima et al. (2006) a atividade da PME pode diminuir, permanecer constante ou aumentar durante a maturação, dependendo do fruto e do método de extração.

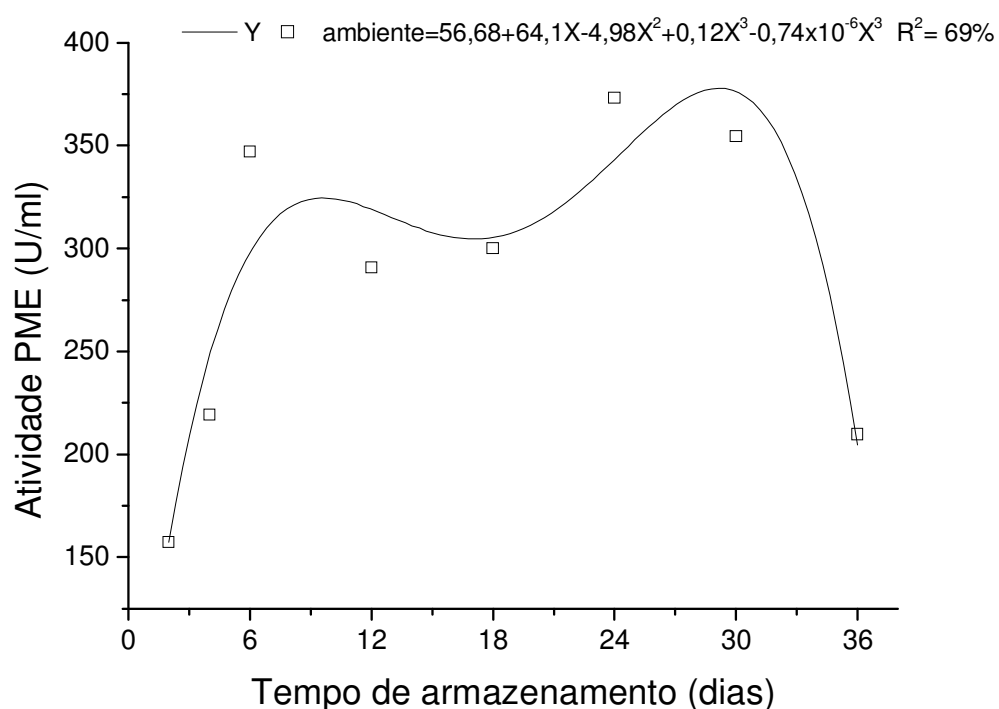


Figura 5. Atividade da enzima PME dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente (□) durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.

Comportamento similar da atividade da PME foi observado nos mamões armazenados em atmosfera ambiente (Figura 5). A atividade da enzima aumentou até o 6º dia, apresentou uma queda até o 18º dia e posteriormente aumentou até o 30º dia e então caiu novamente.

Os resultados das medidas de firmeza dos frutos de mamoeiro armazenados em atmosfera controlada a 1%, 3% e a 5% de O<sub>2</sub>, está mostrado na Figuras 6 e Figura 7, respectivamente.

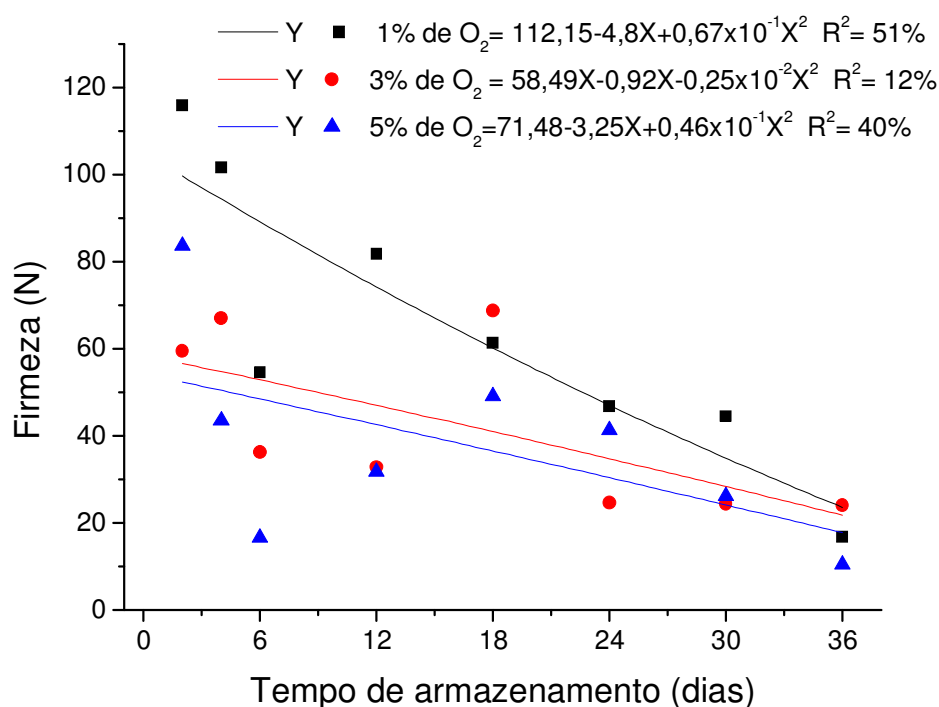


Figura 6. Firmeza dos mamões 'Golden' armazenados a 1% (■), 3% (●) e a 5% (▲) de O<sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.

Os mamões armazenados em atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> apresentaram maior firmeza durante o armazenamento, resultados semelhantes foram encontrados por Martins (2005), nesse trabalho verificou-se o enrijecimento da polpa de mamão 'Golden' armazenados em atmosfera controlada com 1% O<sub>2</sub> e 10% CO<sub>2</sub> a 13°C por 48 dias. Com 12 dias de estocagem, os frutos estocados a 1%, 3% e 5% apresentaram valores de firmeza de 81,76, 32,74 e 31,75 N, respectivamente. Esta menor perda de firmeza observada nos frutos armazenados com 1% O<sub>2</sub> pode ser explicada pela menor atividade da β-Gal e da

PME encontrada nos períodos iniciais de estocagem dos frutos (Figuras 2 e 4). Estes resultados demonstram a importância das enzimas PME e  $\beta$ -Gal no processo de amolecimento do mamão e a eficácia do tratamento, em que foi utilizada a atmosfera 1% de  $\text{CO}_2$  no controle da atividade destas enzimas.

Uma redução da firmeza e um aumento da atividade da  $\beta$ -galactosidase foram observados em manga cv. Harumanis por Ali et al. (1995). Segundo estes autores, entre as glicosidases estudadas, a  $\beta$ -Gal, pareceu ser a mais significativa. A atividade desta enzima aumentou em paralelo com o aumento do amolecimento do tecido durante o amadurecimento da fruta.

Os mamões armazenados em atmosfera ambiente apresentaram uma perda da firmeza (Figura 7) acompanhada com o aumento da atividade  $\beta$ -Gal e PME (Figuras 3 e 5), mostrando a correlação dessas enzimas no processo inicial de amolecimento dos frutos de mamoeiro.

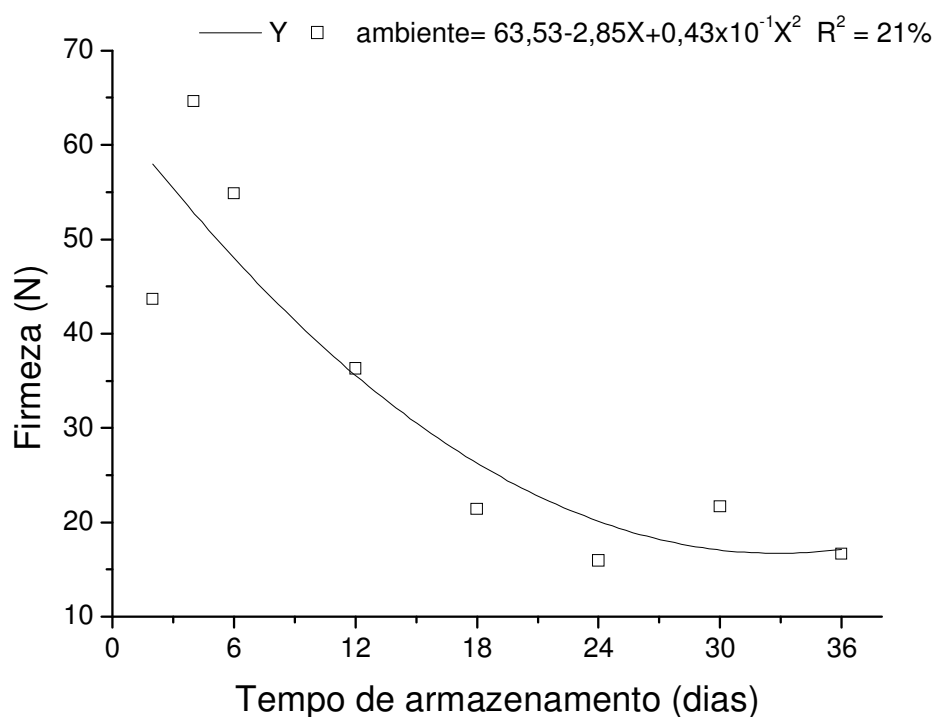


Figura 7. Firmeza dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente (□) durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95%UR.

Os resultados dos valores do pH da polpa dos mamões armazenados em atmosfera controlada a 1%, 3% e a 5% de O<sub>2</sub>, atmosfera ambiente está mostrado na Figura 8 e Figura 9, respectivamente.

Os mamões armazenados em atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> apresentaram valores de pH constantes até o 24º dia de armazenamento. Os mamões estocados em atmosfera de 3% apresentaram um pequeno acréscimo nos valores do pH até 24º de armazenamento e aqueles estocados a 5% de O<sub>2</sub> apresentaram uma queda até o 6º e então, aumentou até o 24º dia de armazenamento. Martins (2005) encontrou resultados similares em atmosferas com 3 e 5% de O<sub>2</sub> em mamões 'Golden'. Estes resultados sugerem que nos frutos estocados em atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> pode ter ocorrido uma inibição da respiração (Chitarra e Chitarra 2005).

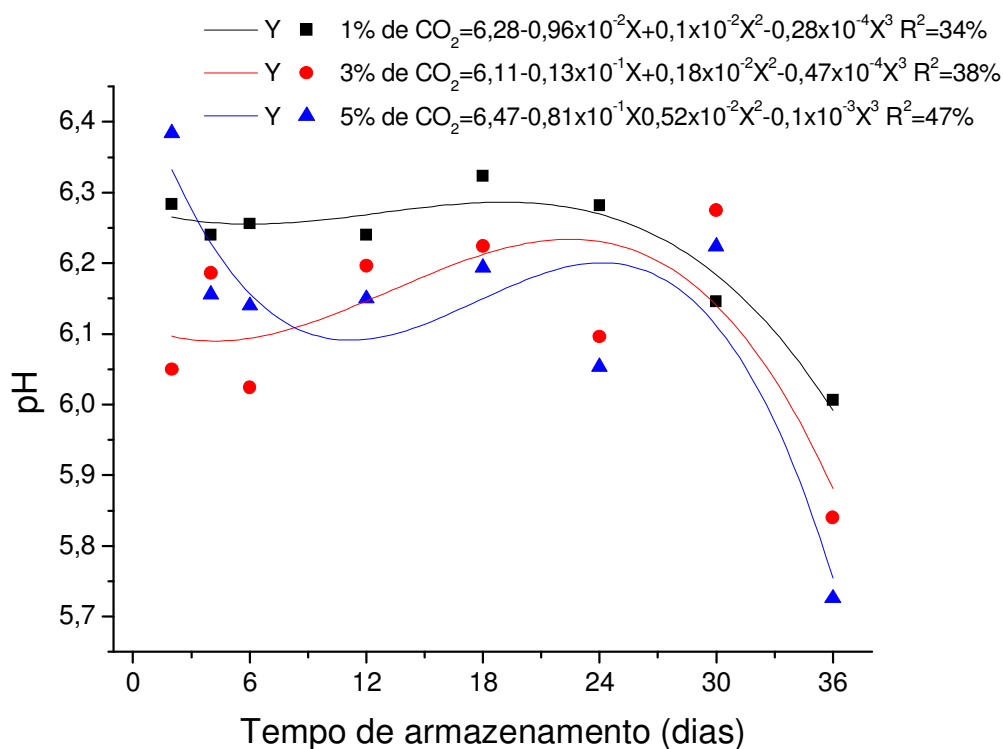


Figura 8. Valores de pH dos mamões 'Golden' armazenados a 1% (■), 3% (●) e a 5% (▲) de O<sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.

Após 24 dias de armazenamento dos frutos houve um decréscimo nos valores do pH da polpa para todos os tratamentos. Como já foi mostrado na



Figura 2 e Figura 4, neste período ocorreu também um aumento na atividade das enzimas  $\beta$ -Gal e PME e conseqüentemente, a formação de ácido galacturônico, provenientes da hidrólise de compostos da parede celular (Almeida, 2003).

De acordo com a Figura 9, os valores do pH para os frutos armazenados por um período de 18 dias em atmosfera ambiente apresentaram uma suave queda, após esse período a queda foi mais acentuada.

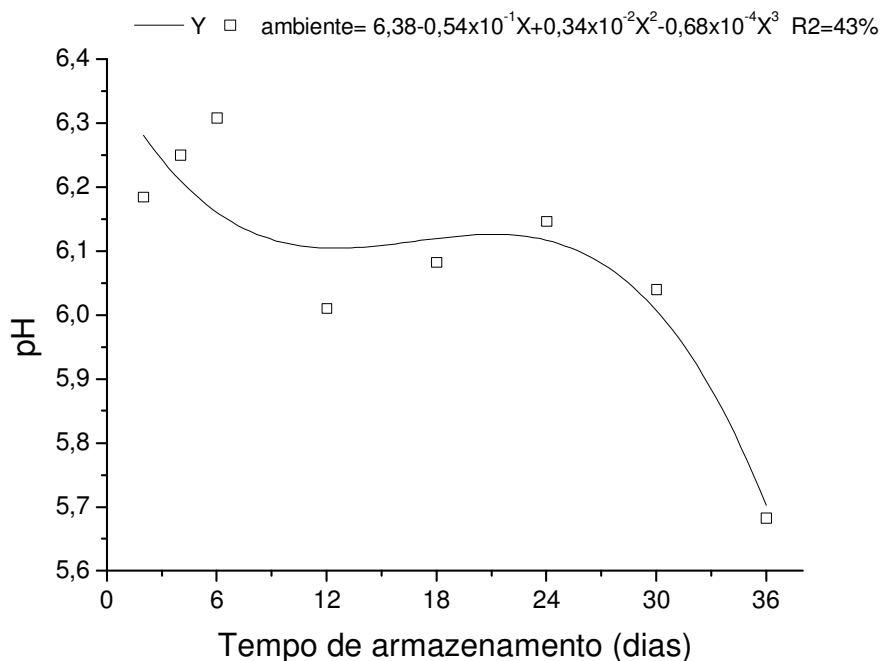


Figura 9. pH dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente (□) durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.

Os frutos de mamoeiro armazenados a 1% de O<sub>2</sub> mantiveram a coloração verde (H=100,09°) até o 12º dia de armazenamento, enquanto que os frutos armazenados a 3% e a 5% apresentaram valores de média do ângulo *hue* 90,61 e 89,63° respectivamente, indicando uma coloração menos verde (Figura 10). Estes resultados mostram que a utilização da atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> reteve mais o desenvolvimento da cor da casca, indicador de estágio de maturação.

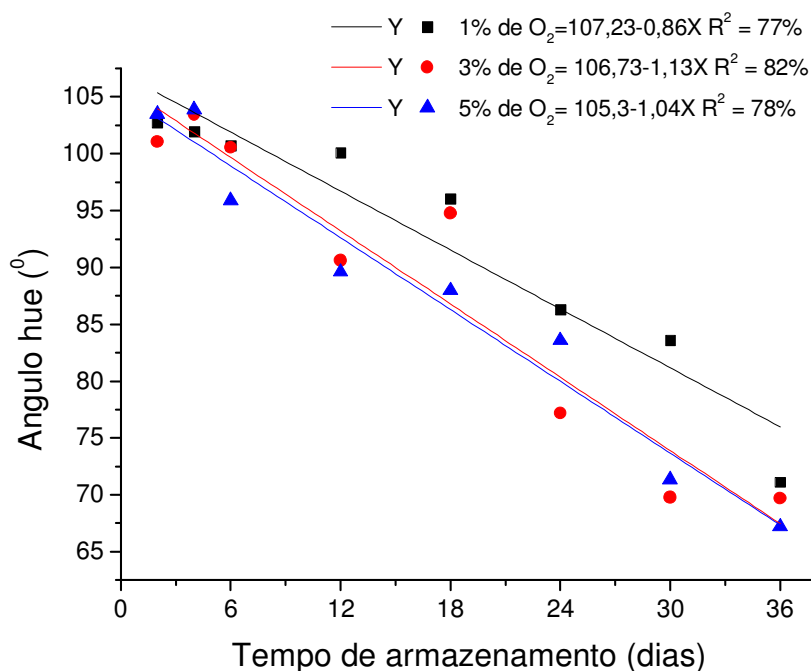


Figura 10. Ângulo *hue* dos mamões 'Golden' armazenados a 1% (■), 3% (●) e a 5% (▲) de O<sub>2</sub> durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.

Após o 12<sup>o</sup> dia de armazenamento, os mamões estocados em atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> apresentaram valores do ângulo *hue* superiores aos encontrados para as outras atmosferas. Portanto, o armazenamento dos mamões em atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> não prejudicou a síntese de carotenóides, apenas retardou o seu desenvolvimento, fornecendo indícios de que o processo de amadurecimento possa ter sido retardado. Resultados similares foram encontrados por Fonseca et al. (2006), que observaram diferentes índices de coloração da casca de mamões 'Sunrise Solo' armazenado sob diferentes atmosferas. Segundo estes autores, os mamões apresentaram taxas de desenvolvimento fisiológico distintas entre as atmosferas estudadas.

Brackmann et al. (2000) verificaram manutenção da coloração de fundo ligeiramente mais verde, logo após a abertura das câmaras, em maçãs 'Gala' em armazenamento sob 2,3% de O<sub>2</sub> associado a 13,6% de CO<sub>2</sub>, durante 5 dias, seguidos de 1,5% de O<sub>2</sub> e 3,0% de CO<sub>2</sub>, em período total de oito meses. Contudo, após sete dias em temperatura ambiente, a coloração dos frutos evoluiu rapidamente, não existindo mais diferenças.

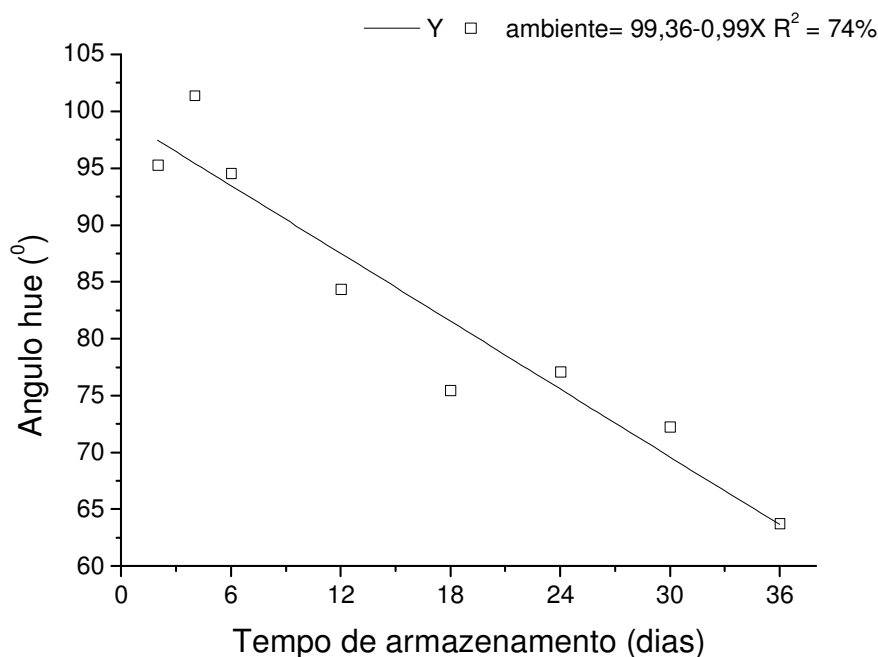


Figura 11. Ângulo *hue* dos mamões 'Golden' armazenados em atmosfera ambiente (□) durante 36 dias sob temperatura de 13°C e 85-95% UR.

Os mamões armazenados em atmosfera ambiente apresentaram um comportamento semelhante aos frutos conservados em atmosfera controlada 3 e 5% de O<sub>2</sub> (Figuras 10 e 11).

## CONCLUSÕES

O armazenamento de frutos de mamoeiro 'Golden' sob condições de atmosfera controlada contendo 1% de O<sub>2</sub> e 0,03% O<sub>2</sub> diminuiu a atividade das enzimas β-galactosidase e pectina metilesterase nos períodos iniciais da estocagem. Nestas mesmas condições foi observada uma menor redução da firmeza dos frutos e um atraso no aparecimento da cor amarela da casca, indicando que o processo de amadurecimento dos frutos foi retardado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, Z. M., Armugan, S., Lazan, H. (1995)  $\beta$ -galactosidase and its significance ripening during mango fruit. **Phytochemistry**, v. 38, p. 1109-1114.
- Almeida, R. F. (2003) Avaliação das características físicas e químicas de frutos de mamoeiro 'Golden' submetidos à refrigeração. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, RJ, 46p.
- Arbaisah, Z. M., Asbi, B. A., Junainah, A. H., Jamilah, B. (1996) Determination of optimum conditions for pectinesterase extraction from soursop fruit (*Anona muricata*) using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 55, p.289-292.
- Barbosa, G. K. C., Miranda, M. R. A., Mendes, L. G. (2007) Estudo inicial da beta-galactosidase da parede celular da polpa de sapoti (*Manilkara sapota* L. Von Royen) maduro. *In*: 47º CBQ-congresso Brasileiro de Química 2007, Natal.
- Brackmann, A., Waclawosky, A. J., Balz, G. (2000) Tratamentos com altas concentrações de CO<sub>2</sub> em maçãs cv. Gala antes do armazenamento em atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, p. 82-85.
- Chitarra, M. I. F., Chitarra, A. B. (2005) Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e Manuseio. 2º Edição Revisada e Ampliada, Editora UFLA, Lavras MG, p. 785
- Deng, Y., Wu, Y., Li, Y. (2007) Effects of high CO<sub>2</sub> and low O<sub>2</sub> atmospheres on the berry drop of "Kyoho" grapes. **Food Chemistry**, v. 100, p. 768-773.
- Fonseca, M. J. O., Leal, N., Cenci, S. A., Cecon, P. R., Smith, R. E. B. (2006) Conservação pós-colheita de mamão 'Sunrise Solo' e 'Golden' em atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 31,p. 154-161.

- Hagerman, A. E., Aunstin, P. J. (1986) Continuous Spectrophotometric Assay for Plant Pectin Methyl Esterase. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 34, p.440-444.
- Karakurt, Y., Huber, D. J. (2003) Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 18, p. 219-229.
- Lazan, H., Selamat, M. K., Ali, Z. M. (1995)  $\beta$ -Galactosidase, polygalacturonase and pectinesterase in differential softening and cell wall modification during papaya fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, v. 95, p. 106-112.
- Lima, M. A. C., Alves, R. E., Filgueiras, H. A. C. (2006) Mudanças relacionadas ao amaciamento da graviola durante a maturação pós-colheita, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p.1707-1713.
- Lunardi, R., Brackmann, A., Neuwald, D. A., Zanatta, J.F., Silva, J. A., Rombaldi, C. V. (2004) Avaliação da suculência em maçãs ‘Gala’ armazenadas em atmosfera controlada, em função de diferentes pressões parciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>. **Ciência e Agrotecnologia**, v, 28, p. 95-101.
- Martins, D. R. (2005) Qualidade pós-colheita do mamão armazenado sob refrigeração em condições de atmosfera controlada. Tese (Mestrado em produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes -RJ, Universidade Estadual do Norte fluminense Darcy Rieiro – UENF, p.108.
- Mwamiki, M. W., Mathooko, F. M., Maatsuzaki, M., Hiwasa, K., Tateishi, A., Ushijima, K., Nakano, R., Inaba, A., Kubo, Y. (2005) Expression characteristic of seven members of  $\beta$ -galactosidase gene family in ‘La France’ pear (*Pyrus communis* L.) fruit during growth and their regulation by 1-methylcyclopropene during postharvest ripening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, p. 253-263.
- Oliveira, M. A. B. (2002). Caracterização da cor do estágio de maturação e influência do 1-MCP na conservação pós-colheita do mamão (*Carica papaya*

L.).Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, p. 117.

Paull, R. E., Gross, K., Qiu, Y. (1999) Changes in papaya cell during fruit ripening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 16, p. 79-89.

Resende, E. D., Carlos, L. A., Vitorazi, L., Oliveira, V. V. (2003). Desenvolvimento e avaliação de uma metodologia de amostragem de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *In*: CD-rom. **I Reunião de Pesquisa do Frutimamão no Norte Fluminense**, Campos dos Goytacazes.

Vicente, A. R., Costa, M. L., Martinez, G. A., Chaves, A. R., Civello, P. M. (2005) Effect of heat treatment on cell wall degradation and softening in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 38, p. 213-222

#### 4. CONCLUSÕES

As principais propriedades da enzima  $\beta$ -Gal e PME em mamões 'Golden' encontradas foram pH 7,5 e temperatura para atividade ótima 80°C para PME. Já para  $\beta$ -Gal, o valor de pH para atividade ótima da enzima foi 4,5, enquanto que a temperatura ótima encontrada foi de 55°C. Nenhum dos íons investigados estimulou a atividade das enzimas na concentração de 100 mM.

O comportamento das enzimas PME e  $\beta$ -Gal durante o amadurecimento do mamão cv. Golden estocado em câmara de refrigeração a 20°C (85-95% UR) por um período de 12 dias. Nesse período de estocagem, a PME foi mais efetiva no início do amadurecimento, enquanto a  $\beta$ -Gal foi mais efetiva no período intermediário e final do amadurecimento. Uma queda acentuada da firmeza e do pH da polpa ocorreu após os três primeiros dias de armazenamento. Neste período também, os frutos apresentaram valores do ângulo *hue* próximos de 80, que corresponde a uma coloração amarela da casca.

O comportamento das enzimas PME e  $\beta$ -Gal durante o amadurecimento do mamão cv Golden estocado a 13°C (UR 85-95%) em diferentes concentrações de O<sub>2</sub> (1% de O<sub>2</sub> e 0,03% de CO<sub>2</sub> com adsorvedor de etileno, 3% de O<sub>2</sub> e 0,03% de CO<sub>2</sub> com adsorvedor de etileno, 5% O<sub>2</sub> e 0,03% de O<sub>2</sub> com adsorvedor de etileno, atmosfera ambiente), durante 36 dias foram avaliadas. Os frutos estocados sob atmosfera de 1% de O<sub>2</sub> e 0,03% CO<sub>2</sub> apresentaram um atraso nas

atividades das enzimas  $\beta$ -galactosidase e pectina metilesterase comparado com os frutos estocados nas outras atmosferas avaliadas. Nestas mesmas condições foi observada uma menor redução da firmeza dos frutos e um atraso no aparecimento da cor amarela da casca.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, Z. M., Armugam S., Lazan, H. (1995)  $\beta$ -galactosidase and its significance in ripening mango fruit. **Phytochemistry**, v. 38, n.5, p. 1109-1114.
- Ali, Z.M.; Chin, L.; Lazan, H. A. (2004) Comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. **Plant Science**, Limerick, v.167, n. 2, p. 317-327, 2004.
- Ali, Z. M., Chin, L-H., Marimuthu, M., Lazan, H. (2004) Low temperature storage and modified atmosphere packaging of carambola fruit and their effects on ripening related texture changes, wall modification and chilling injury symptoms. **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, p. 181–192.
- Ali, Z. M., Ng, S. Y., Othman R., Goh, L. Y, Lanzan, H. (1998) Isolation, characterization and significance of papaya  $\beta$ -galactanases to cell wall modification and fruit softening during ripening. **Physiologia Platarum**, v. 104, p. 105-115.
- Almeida, R. F. (2003) Avaliação das características físicas e químicas de frutos de mamoeiro 'Golden' submetidos à refrigeração. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, RJ, 46p.

- Almeida, R.F., Resende, E. D, Vitorazi L., Carlos L. A., Pinto, L. K. A., Silva, H. R. F., Martins M. L. L. (2006) Influence of the refrigerating temperature on the chemical characteristics of papaya fruits cv. Golden. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 263, p.577-581.
- Amaro, A. A., Sachs, R. C. C., Silva, P. R. (2009) Relações de preços na comercialização de mamão em São Paulo, **Informações econômicas**, v. 39, p. 61-67.
- Arancibia, R. A., Motsenbocker, C. E. (2006) Pectin methylesterase activity in vivo differs from activity in vitro and enhances polygalacturonase-mediated pectin degradation in tabasco pepper. **Journal of Plant Physiology**, v.163, p.488-496.
- Arbaisah, S. M., Asbi, B. A., Junainah, A. H., Jamilah, B. (1996) Determination of optimum conditions for pectinesterase extraction from soursop fruit (*Anona muricata*) using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 55, p. 289-292.
- Arbaisah, S. M., Asbi, B. A., Junainah, A. H., Jamilah, B. (1997) Purification and properties of pectinesterase from soursop (*Anona muricata*) pulp. **Food Chemistry**, v.59, p.33-44.
- Asif, M. H.; Pravenda N. (2005) Expression of multiple forms of polygalacturonase gene during ripening in banana fruit. **Plant Physiology and Biochemistry** v. 43, p. 177-184.
- Assis, J. S., Maldonado, R., Muñoz, T., Escribano, M. I., Merodio, C. (2001) effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.23, p. 33-39.
- Assis S. A., Lima, D. C., Oliveira, O. M. F. (2000) Acerola's pectin methylesterase studies of heat inactivation. **Food Chemistry**, v. 71, p.465-467.

- Assis, S. A., Martins, A. B. G., Quaguianoni, D. G., Oliveira, O. M. F. (2002) Partial purification and characterization of pectin methylesterase from acerola (*Malpighia glabra* L.). **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.50, p. 4103-4107.
- Awad, M. (1993) **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 114p.
- Badillo, V. M (1971) Monografía de la familia Caricaceae Maracay – Venezuela: Editora Nuestra América C.A. P. 221.
- Barbosa G. K. C., Miranda, G. K. C., Mendes, L. G. (2007). Estudo da beta-galactosidase da parede celular de sapoti (*Manika sapota* L. Von royen) maduro. In: 47<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Química/ABQ-Rio Grande do Norte. Tema: Recursos não renováveis
- Bender, R. J., Brecht, J.(2000) Respiração e produção de etanol e etileno em mangas armazenadas sob diferentes concentrações de dióxido de carbono e oxigênio. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 35, p.865-871.
- Beaudry, R. M. (1999) Effect of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. **Postharvest Biology Technology**, v. 15, p. 293-303.
- Bicalho, U. O., Chitarra, A. B., Chitarra, M. I. F., Coelho, A. H. (2000) Modificações texturais em mamões submetidos à aplicação pós-colheita de cálcio e embalagens de PVC. **Ciências e Agrotecnologia**, 24 (1): 136-146.
- Botrel, N., Carvalho, V.D. (1993) Efeito do peso do fruto no escurecimento interno e qualidade do abacaxi 'Smooth Cayenne'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, n.6, p. 733-742.
- Brackmann, A., Chitarra, A. B. (1988) Atmosfera controlada e atmosfera modificada. In: Borém, F. M. **Armazenamento e processamento de produtos agrícolas**, Lavras. UFLA/SEA, 282 p., p. 133-170.

- Brackmann, A., Waclawosky, A. J., Balz, G. (2000) Tratamentos com altas concentrações de CO<sub>2</sub> em maçãs cv. Gala antes do armazenamento em atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, p. 82-85.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding – **Anal Biochemistry**, v.72, p.248-254.
- Brummel, D.A., Labavitch, J.M. (1997) Effect of antisense suppression of endopolygalacturonase activity on polyuronide molecular weight in ripening tomato fruit and in fruit homogenates. **Plant Physiology**, v. 115, p. 717-725.
- Chang L. W. S., Morita, L. L., Yamamoto, H. Y. (1965) Papaya pectin methylesterase inhibition by sucrose. **Journal Food Science**, 30:169-175.
- Chen, N. M., Paull, R. E. (1986) Developmente and prevention chilling injury papaya fruit. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 111, p. 639-643
- Chitarra, M. I. F. (1988) **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Viçosa: UFV, p. 88.
- Chitarra, M. I. F., Chitarra, A. B. (2005) Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e Manuseio. 2º Edição Revisada e Ampliada, Editora UFLA, Lavras MG, p. 785
- Chourasia , A., Sane, V. A., Nath, P. (2006) Differential expression of pectate lyase during ethylene-induced postharvestsoftening of mango (*Mangifera indica* var. Dashehari) **Physiology Plantarum**, v. 111, p. 546-555.
- Costa, A. F. S., Martins, D. S., Costa, A. N., Fassio, L. H. (2005) Evolução da cultura e do mercado mundial de mamão. *In*: Papaya Brasil, Vitória – Espírito Santos.
- Da Silva, R., Franco, C. M. L., Gomes, E. (1997) Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: revisão. **Boletim do SBCTA**, v.31, p. 249-260.

- Davies, D. D. (1986) The fine control of cytosolic pH. **Physiologia Plantarum**, v. 67, p. 702-706.
- Deng, Y., Wu, Y., Li, Y. (2005) Changes in firmness, cell wall composition and cell wall hydrolases of grapes stored in high oxygen atmospheres. **Food Research International**. v. 38, p. 769–776.
- Deng, Y., Wu, Y., Li, Y. (2007) Effects of high CO<sub>2</sub> and low O<sub>2</sub> atmospheres on the berry drop of “Kyoho” grapes. **Food Chemistry**, v. 100, p. 768-773.
- Draetta, I. S.; Shimokami, M.; Yokomizo, Y.; Fujita, J. T.; Menezes, H. C.; Bleinorith, E. W. (1975) Transformações bioquímicas do mamão (*Carica papaya* L.) durante a maturação. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 6, n. 3, p. 395-408.
- Esteban, R., Labrador, E., Dopico, B. (2005) A family of  $\beta$ -glactosidase of vegetative tissue in *Cicer arietinum*. **Plant Science**, v.168, p.457-466.
- Faria, J., B., Cavalca, M. M., Ferreira, R. C., Janzanti, N. S. (1994) Transformações enzimáticas das substâncias pécticas da manga (*Mangifera indica* L.) v. Haden no amadurecimento. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 14, p. 189-201.
- Fayyaz, A., Asbi, B. A., Ghazali, H. M., Che Man, Y. B., Jinap, S. (1995a) Kinetics of papaya pectinaesterase. **Food Chemistry**, v. 53, p. 129-135.
- Fayyaz A., Asbi, B. A., Ghazali, H. M., Che Man, Y. B., Jinap, S. (1995b) Stability studies of papaya pectinesterase. **Food Chemistry**, v. 53, p.391-396.
- Figueroa, C. R., Pimentel, P., Gaete-Eawstman, C., Moya, M., Herrera, R., Caligari, P. D. S., Moya-Léon, M. A. (2008) Softening rate of the Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*) fruit reflects the expression of poligalacturonase and pectate lyase genes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, p. 210-220.
- Filho, A. B., Kimati, H., Amorin, L. (editores) (1995) **Manual de Fitopatologia**. 3<sup>o</sup> ed., Agronômica Ceres: São Paulo, p. 919.

- Fonseca, M. J. O. (2002). Conservação pós-colheita de mamão (*Carica papaya* L.) análise das cultivares sunrise solo e golden, sob controle da temperatura e da atmosfera. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, p. 177.
- Fonseca, M. J. O., Leal, N., Cenci, S. A., Cecon, P. R., Smith, R. E. B. (2006) Conservação pós-colheita de mamão 'Sunrise Solo' e 'Golden' em atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 31, p. 154-161.
- Fontes, R. V.; Santos, M. P.; Falqueto, A. R.; Silva, D. M. (2008) Atividade da pectinametilesterase e sua relação com a perda de firmeza da polpa de mamão cv. Sunrise Solo e Tainung. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p. 54-58.
- Gallego, P.P.; Zarra, I. (1998) Cell wall autolysis during kiwifruit development. **Annals of Botany**, Oxford, v.81, n.1, p.91-96.
- Giovannoni, J. (2001) Molecular biology of fruit maturation and ripening. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.52, p.725-749.
- Goulao, L. F., Santos, J. , Souza, I., Oliveira, C. M. (2007) Patterns of enzymatic activity of cell wall-modifying enzymes during growth and ripening of apples. **Postharvest Biology and Technology**, v.43, p. 307-318..
- Hagerman, A. E., Aunstin, P. J. (1986) Continuous Spectrophotometric Assay for Plant Pectin Methyl Esterase. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 34, p.440-444.
- Hansen M. E., Sorensen, H., Cantwell, M. (2001) changes in acetaldehyde, ethanol and amino acid concentrations in broccoli florets during air and controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Techonoly**, v. 22, p. 227-237.
- Hernández, Y.; Lobo, M. G.; González, M. (2006) Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**, Berking, v 96, n.7, 654-664.

- Herner, R.C. (1987) High effects in plant organs. *In: Weichamn, Journal Postharvest Physiology of Vegetables*. New York: Marcel Dekker, p. 239-253.
- Hopkins, G. W. (1995) Introduction to plant physiology. John Wiley&Sons, Inc, p. 464.
- Huber, D.J. (1983). Polyuronide degradation and hemicellulose modifications in ripening tomato fruit. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, 108: 405-409.
- IBGE (2005) Instituto Brasileiro de Estatística e Geografia.
- Imahori, Y., Kota, M., Ueda, Y., Ishimaru, M., Cachin, K. (2002) Regulation of ethanolic fermentation in bell pepper fruit under low oxygen stress. **Postharvest Biology and Technology**, v. 25, p. 159-167.
- Jacomino, A.P.; Kluge, R.A.; Brackmann, A.; Castro, P.R.C. (2002) Amadurecimento e senescência de mamão com 1-metilciclopropeno. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 303-308.
- Karder, A. A. (1986) Biochemical and physiology basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. **Food Technology**, v. 40, p. 99-104.
- Kader, A. A. (2006) Papaya: recommendations for maintaining postharvest quality; <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Fruit/papaya.shtml> em 13/09/2006.
- Karakurt, Y.; Huber, D.J. (2003) Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.28, n.2, p.219-229.
- Kays, S. J. (1991) **Postharvest Physiology Perishable Plant Products**. Van Nostrand Reinhold. New York, p. 532.

- Ke, D., Rodrigues-Sinobas, L., Kader, A. A. (1991) Physiology and prediction of fruit tolerance to low-oxygen atmospheres. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 116, p.253-260.
- Ketsa, S., Daengkanit, T. (1999) Firmness and activities of polygalacturonase, pectinesterase,  $\beta$ -galactosidase and cellulase in ripening during harvest at different stages of maturity. **Scientia Horticulturae**, v. 80, p.181-188.
- Labib, A. S., El-Ashwah, F., Omran, H.T., Askar, A. (1995) Heat-inactivation of mango pectinesterase and polygalacturonase, **Food Chemistry**, v. 53, p.137-142.
- Lafuente, M. T., Zacarias, L., Martínez-Téllez, M. A., Sánchez-Ballesta, M. T., Granell, A. (2003) Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age citrus. **Postharvest Biology and Technology**, v. 29, p. 308-317.
- Lana, M. M., Finger, F. L. (2000) Atmosfera modificada e controlada. Aplicação na conservação de produtos hortícolas. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Hortaliças, p. 34.
- Larsen, M., Watkins, C. B. (1995) Firmness and concentrations of acetaldehyde, ethyl acetate and ethanol in strawberries stored in controlled and modified atmospheres. **Postharvest Biology Technology**, v. 5, p. 39-50.
- Lazan, H., Ali, Z. M., Liang, K. S., Yee, K. (1989) Polygalacturonase activity and variation in ripening of papaya fruit with tissue depth and heat treatment. **Physiologia Plantarum**, v. 77, p. 93-97.
- Lazan, H., Ng S-Y., Goh, L-Y., Ali, Z. M. (2004) Papaya  $\beta$ -galactosidase/galactanase isoforms in differential cell wall hydrolysis and fruit softening during ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.42, p. 847-853.
- Lazan, H., Selamat, M. K., Ali, Z. M. (1995)  $\beta$ -Galactosidase, polygalacturonase and pectinesterase in differential softening and cell wall modification during papaya fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, v. 95, p. 106-112.



- Lim, M. Y., Chung, M. C. M. (1993) Isolation and characterization of pectin methylesterase from papaya. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.1, p.15-20.
- Lima, M. A. C., Alves, R. E., Filgueiras, H. A. C. (2006) Mudanças relacionadas ao amaciamento da graviola durante a maturação pós-colheita, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p.1707-1713.
- Lohani, S., Trivedi, P. K., Nath, P. (2004) Changes in activities of cell wall hydrolases during ethylene-induced ripening in banana: effect of 1-MCP, ABA and IAA. **Postharvest Technology and Biology**, v. 31, p. 119-126.
- Lourenço, E. J., Catutani, A. T. (1984) Purification and properties of pectinesterase from papaya. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.35, p.1120-1127.
- Lunardi, R., Brackmann, A., Neuwald, D. A., Zanatta, J.F., Silva, J. A., Rombaldi, C. V. (2004) Avaliação da suculência em maçãs 'Gala' armazenadas em atmosfera controlada, em função de diferentes pressões parciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>. **Ciência e Agrotecnologia**, v, 28, p. 95-101.
- Mareczeck, A., Leja, M., Ben, J. (2000) Total phenolics, anthocyanins and antioxidant activity in the peel of the stored apples. **Journal Fruit Ornamental Plants Research**, v, 8, p. 59-64.
- Martins, D. dos S., Costa, A. F. S. (2003) **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória, ES. Incaper, p. 497.
- Martins, D. R. (2005) Qualidade pós-colheita do mamão armazenado sob refrigeração em condições de atmosfera controlada. Tese (Mestrado em produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes -RJ, Universidade Estadual do Norte fluminense Darcy Rieiro – UENF, p.108.
- Mathooko, F. M. (1996) Regulation of respiratory metabolism in fruits and vegetables by carbon dioxide. **Postharvest Biology Technology**, v. 9, p. 247-264.

- Moreira, L. M. (2000) **Atmosfera modificada e controlada**: aplicação na conservação de produtos hortícolas. Brasília, DF: Embrapa-Hortaliças.
- Mwaniki, M.W.; Mathooko, F.M.; Maatsuzaki, M.; Hiwasa, K.; Tateishi, A.; Ushijima, K.; Nakano, R.; Inaba, A.; Kubo, Y. (2005) Expression characteristics of seven members of the  $\beta$ -galactosidase gene family in 'La France' pear (*Pyrus communis* L.) fruit during growth and their regulation by 1-methylcyclopropene during postharvest ripening. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.36, n.2, p.253-263.
- Nunes, M.C. N., Emond, J. P., Brecht, J. K. (2006) Brief deviations from set point temperatures during normal airport handling operations negatively affect the quality of papaya (*Carica papaya*) fruit. **Postharvest Biology Technology**, v. 41, p. 328-340
- Oliveira, M. A. B. (2002). Caracterização da cor do estágio de maturação e influência do 1-MCP na conservação pós-colheita do mamão (*Carica papaya* L.) Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, p. 117.
- Pariasca, J. A. T., Miyazaki, T., Hisaka, H., Nakagawa, H., Sato, T. (2000) Effect of modified atmosphere packaging (MAP) and controlled atmosphere (CA) storage on quality of snow pea pods (*Pisum sativum* L. var. *saccharatum*) **Postharvest Biology Technology**, v. 21, p. 213-223.
- Pathak., N., Mishra, s., Sanwal, G. g. (2000) Purification and characterization of poligalacturonase from banana fruit. **Phytochemistry**, v. 54, p. 147-152.
- Paull, R. E., Chen, N. J. (1983) Postharvest variation in cel wall-degradation enzymes of papaya (*Carica papaya* L.) during ripening. **Plant Physiology**, v. 72, p. 382-385.
- Paull, R. E., Gross, K., Qiu, Y. (1999) Changes in papaya cell during fruit ripening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 16, p. 79-89.

- Pereyra, L., Roura, S. I., Valle, C. E. Del (2005) Phenylalanine ammonia lyase activity in minimally processed Romaine lettuce. **Lebensm-Wiss-Technology**, v. 38, p. 67-72.
- Pesis, E. (2005) The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v.37, p. 1-19.
- Pesis, E., Dvir, O., Feygenberg, O., Arie, R. B., Ackerman, M., Lichter, A. (2002) Production of acetaldehyde and ethanol during maturation and modified atmosphere storage of litchi fruit **Postharvest Biology and Technology**, v.26, p. 157-165.
- Pinto, L. K. A., Martins, M. L. L., Resende, E. D., Almeida, R. F., Vitorazi, L. Pereira, S. M. F. (2006) Influence of the modified atmosphere by plastic films on the quality of papaya fruit stored under refrigeration. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 444-451.
- Prasanna, V., Prabha T. N., Tharanathan, R. N. (2006) Multiple forms of polygalacturonase from mango (*Mangifera indica* cv. Alphonso) fruit, v. 95, p.30-36.
- Pressey, R., Avants, J. K. (1972) Multiple forms of pectinesterase in tomato. **Phytochemistry**, v. 11, p.31339-31342.
- Pressey, R., Avants, J. K. (1973) Separation and characterization of endopolygalacturonase and exopolygalacturonase from peaches. **Plant Physiology**, v. 53, p. 252-256.
- Raven, P. H., Evert, R. F., Eichorn, S. E. (1996) **Biologia Vegetal**. 5<sup>ed</sup>. NY: Wrth Publisher, Inc. 728, p.
- Resende, E. D., Carlos, L. A., Vitorazi, L., Oliveira, V. V. (2003). Desenvolvimento e avaliação de uma metodologia de amostragem de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). In: CD-rom. *I Reunião de Pesquisa do Frutimamão no Norte Fluminense*, Campos dos Goytacazes.

- Rillo, L., Castaldo, D., Giovane, A., Servillo, L., Balestrieri, C., Quagliuolo, L. (1992) Purification and properties of pectin methylesterase from mandarin orange fruit. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.40, p.591-593.
- Sankat, C. K., Maharaj, R. (1997) Papaya. *In: Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits*, p. 167-189.
- Saltveit, .E. M. (2003) Is it possible to find an optimal controlled atmosphere? **Postharvest Biology and Techonology**, v. 27, p. 3-13.
- Sarioglu, K. Demir, N., Acar, J., Mutlu, M. (2001) the use commercial pectinase in the fruit juice industry, part 2: Determination of kinetic behavior of immobilized commercial pectinase. **Journal of food Engineering**, v. 47, p. 271-274.
- Shkodina, O. G., Zeltser, O. A., Selivanov, N. Y., Ignatov. V. V. (1998) Enzymic extraction of pectin preparations from pumpkin. **Food Engineering**, v. 12, p. 313-316.
- Silva, H.R.F; Resende, E.D.; Pinto, L.K.A.; Almeida, R. F; Martins, M.L.L.(2006) Atividade da enzima poligalacturonase em frutos de mamoeiro cv. Golden armazenados sob refrigeração. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.31, p. 187-191..
- Soh, C. P., Ali, Z. M., Lazan, H. (2006) Characterization of an  $\alpha$ -galactosidase with potential relevance to ripening related texture change. **Phytochemistry**, 67, p.242-254.
- Sozzi, G., Cascone, O., Fraschina, A. A. (1996) Effect of hight-temperatura stress on endo- $\beta$ -mannase  $\alpha$ -and- $\beta$ galactosidase activities during tomato fruit ripening. **Postharvest biology and Technology**, v. 9, p. 4-63.
- Souza, S. A. M. (2007) Mamão no Brasil: distribuição regional da produção e comportamento de preços no período 1996-2005. **Informações Econômicas**, v. 37, n.9, p. 24-32.
- Spalding, D. H., Reeder, W. F. (1974) Current status of controlled atmosphere storage of four tropical fruits. *Horticultural Society*, p. 334-337.

- Taiz, L., Zeiger, E. (2004); **Fisiologia Vegetal**, trad. Elaine Romanato Santarém et al. 3<sup>ed</sup>, Porto Alegre: Artemed.
- Tateishi, A.; Shiba, H.; Ogihara, J.; Isobe, K.; Nomuraa, K.; Watanabe, K.; Inoue, H. (2007) Differential expression and ethylene regulation of beta-galactosidase genes and isozymes isolated from avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.45, n.1, 56-65.
- Thé, P. M. P., Carvalho, V. D., Abreu, C. M. P., Nunes, R. P., Pinto, N. A. V. D. (2001) Modificações na atividade enzimática em abacaxi "*Somooth Cayenne*" em função da temperatura de armazenamento, do estágio de maturação. **Ciência Agrotécnica**, v. 25, p. 364-370.
- Tijskens, L. M. M., Rodis, P. S., Hertog, M. L. A. T. M., Proxenia, N., Dijik, van C. (1999) Activity of pectin methyl esterase during blanching of peaches. **Journal of Food Engineering**, v.39, p.167-177.
- Tompson, A. K. (1998) **Controlled atmosphere storage of fruit and vegetables**. Wallingford: CAB Internacional, p. 278.
- Uenojo, M., Pastore, G. M. (2007) Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, p. 388-294.
- Vicente, A. R., Costa, M. L., Martinez, G. A., Chaves, A. R., Civello, P. M. (2005) Effect of heat treatment on cell wall degradation and softening in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 38, p. 213-222.
- Yashoda, H. M., Prabha, T. N., Tharanathan, R. N. (2007) Mango ripening – Role of carbohydrases in tissue softening. **Food Chemistry**, v. 3, p. 691-698.
- Zagory, D., Karder, A. A. (1988) Modified atmosphere packaging of fresh produce. **Food Technology**, v. 42, p. 70-77.
- Zhou, Y., Dahler, J.M., Underhill, S.J.R., Wills, R.B.H. (2003) Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. **Food Chemistry**, v.80, p. 565-572

## **APÉNDICE**

Quadro 1A. Resumo da análise de variância para avaliação das características:  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal), pectina metilesterase (PME), pH, cor e firmeza de mamão 'Golden' armazenado em diferentes atmosferas; e dos períodos de armazenamento à temperatura de 13°C por 36 dias.

FV	Quadrado Médio					
	GL	$\beta$ -Gal	PME	pH	cor	firmeza
Controlado X Ambiente	1	12,7537*	11417,28*	09,1320*	1283,044*	4457,701*
CO <sub>2</sub>	2	17,3882*	16970,48*	0,1423*	338,5063*	6184,192*
Dias	7	344,3239*	86183,46*	0,2387*	2553,715*	8595,867*
CO <sub>2</sub> X Dias	14	19,4682*	6246,291*	0,0441*	60,4576 <sup>ns</sup>	1229,704 <sup>ns</sup>
Dias no ambiente	7	323,0085*	30668,12*	0,1806*	853,6454*	1720,014*
Resíduo	128	3,8922	1324,438	0,024	38,6984	804,5070

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>ns</sup> Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.