

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA INCIDÊNCIA DO SOL SOBRE  
A ATIVIDADE DE ALGUMAS ENZIMAS DURANTE A ESTOCAGEM  
REFRIGERADA DO MAMÃO**

**HUGO RAFAEL FONSECA SILVA**

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

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
NOVEMBRO – 2003**

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA INCIDÊNCIA DO SOL SOBRE  
A ATIVIDADE DE ALGUMAS ENZIMAS DURANTE A ESTOCAGEM  
REFRIGERADA DO MAMÃO

**HUGO RAFAEL FONSECA SILVA**

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  
Mestre em Produção Vegetal

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

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
NOVEMBRO – 2003

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA INCIDÊNCIA DO SOL SOBRE  
A ATIVIDADE DE ALGUMAS ENZIMAS DURANTE A ESTOCAGEM  
REFRIGERADA DO MAMÃO

**HUGO RAFAEL FONSECA SILVA**

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  
Mestre em Produção Vegetal

Aprovada em 26 de novembro de 2003

Comissão Examinadora:

---

Prof. Sérgio Lúcio David Marin (Doutor, Produção Vegetal - Melhoramento Genético  
Vegetal) – FAESA

---

Prof. Eder Dutra Resende (Doutor, Engenharia Química) - UENF

---

Prof. Alexandre Pio Viana (Doutor, Produção Vegetal) - UENF

---

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

## **AGRADECIMENTOS**

À UENF, FAPERJ e ao FINEP.

Ao LTA-CCTA, LMGA-CCTA e LCFIS-CCT.

À Caliman Agrícola S.A.

À Cidade de Campos dos Goytacazes.

À Ana Lúcia (Aninha), pela dedicação com a qual tomou a causa para si.

À Sandra, Letícia, Lu, Talita, Lanamar, Sílvia, Monique, Carlos, Milton e Sávio.

Aos companheiros das repúblicas, Victor, Robson, Afonso e Chico.

Ao pessoal das secretarias, Patrícia, Fátima, Luciana e Paulo.

Aos pais e amigos de Campos.

Aos professores Eder, Alexandre, Jurandi e outros.

À professora Karla.

À professora Meire, por ter me acolhido e ajudado nos momentos mais difíceis.

A minha mãe, Dona Carmen.

Ao meu pai, Acácio.

À Cyntia, pelo companheirismo e compreensão, e

ao CRIADOR, o Cientista Supremo.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. Algumas considerações sobre os frutos do mamoeiro.....	3
2.2. Influência da temperatura sobre a conservação de frutos .....	5
2.3. Enzimas envolvidas no escurecimento de frutos .....	7
2.3.1. Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (POD) .....	8
2.3.2. Fenilalanina amonialiase (PAL).....	9
2.4. Enzimas envolvidas no amadurecimento de frutos .....	9
2.5. Exposição dos frutos ao sol .....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	12
3.1. Matéria-prima .....	12
3.2. Armazenamento dos frutos .....	13
3.3. Análises estatísticas.....	14
3.4. Perda de Massa (PM) .....	14
3.5. Determinação de CO <sub>2</sub> .....	15
3.6. Coloração da casca.....	15
3.7. Ensaio enzimáticos.....	16
3.7.1. Polifenoloxidase (PPO) .....	16
3.7.2. Peroxidase (POD) .....	17
3.7.3. Fenilalanina amonialiase (PAL).....	17
3.7.4. Poligalacturonase (PG) .....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20

4.1. Influência da temperatura de estocagem e da exposição dos frutos ao sol sobre a coloração .....	20
4.1.1. Parâmetro de Hunter "a" .....	20
4.1.2. Parâmetro de Hunter "b" .....	23
4.1.3. Parâmetro de Hunter "L" .....	25
4.2. Influência da temperatura sobre a atividade da enzima poligalacturonase (PG) nas regiões dos frutos não expostas ao sol.....	31
4.3. Influência da temperatura de estocagem e da exposição das regiões exposta e não exposta ao sol dos frutos sobre a atividade da enzima fenilalanina amonialiase (PAL).....	33
4.4. Influência da temperatura de estocagem e da exposição dos frutos ao sol sobre a atividade da enzima peroxidase .....	35
4.5. Influência da temperatura de armazenamento e da região de exposição dos frutos ao sol sobre a atividade da enzima polifenoloxidase (PPO).....	37
4.6. Influência da temperatura de estocagem sobre a respiração e a perda de massa .....	39
5. RESUMO E CONCLUSÕES .....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
APÊNDICE .....	53

## RESUMO

SILVA, Hugo Rafael Fonseca; M.S.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; novembro, 2003; Influência da temperatura e da incidência do sol sobre a atividade de algumas enzimas durante a estocagem refrigerada do mamão; Orientadora: Meire Lelis Leal Martins; Conselheiros: Eder Dutra de Rezende e Alexandre Pio Viana.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). O estudo teve como finalidade avaliar o efeito da exposição à radiação solar sobre os frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por um período de 33 dias. Os parâmetros avaliados foram coloração da casca, perda de massa, concentração de gás carbônico e atividade das enzimas Fenilalanina amonialiase (PAL), Polifenoloxidase (PPO), Peroxidase (POD) e Poligalacturonase (PG). Os parâmetros de Hunter 'a', 'b' e 'L', determinados para avaliar o desenvolvimento da coloração, foram significativamente diferentes ao longo do período de armazenamento e sofreram a influência tanto da temperatura quanto da região de exposição dos frutos ao sol. O surgimento do escurecimento foi detectado pelo parâmetro de Hunter 'L' a partir do décimo segundo dia de armazenamento, na região dos frutos exposta à radiação solar. Os frutos armazenados a 13 °C apresentaram valores significativamente maiores para a perda de massa, taxa de respiração e atividade da PG em relação aos frutos armazenados a 6 °C. A atividade da enzima PAL foi maior nos frutos armazenados a 6 °C na região exposta ao sol. A

temperatura de estocagem e a exposição dos frutos ao sol também influenciaram a atividade das enzimas PPO e POD. Ao longo da estocagem, os frutos armazenados a 13 °C apresentaram atividades da enzima PPO superiores aos estocados a 6 °C. Já em relação à enzima POD, foi observado que a sua atividade aumentou com o amadurecimento dos frutos.



## ABSTRACT

SILVA, Hugo Rafael Fonseca; M.S.; Fluminense North State University Darcy Ribeiro; November, 2003; Influence of temperature and the incidence of the sun on the activity of some enzymes during the cold storage of papaya; Supervisor: Meire Lelis Leal Martins; Advisers: Eder Dutra Rezende and Alexandre Pio Viana.

This work was carried out at the Food Technology Laboratory of the Fluminense North State University (UENF). The study had as objective to evaluate the effect of exposition to the solar radiation in papaya fruit (*Carica papaya* L.) stored at temperatures of 6°C and 13°C. The parameters evaluated were skin color, the mass lost, the CO<sub>2</sub> concentration and the activities of the enzymes Phenylalanine ammonia liase (PAL), Polyphenol oxydase (PPO), Peroxydase (POD) and Polygalacturonase (PG). The Hunter parameters 'a', 'b' and 'L' were significantly different along to the period of storage and were influenced as by temperature as by the area of the fruits which were expose at sun. The appearance of the browning was detected by Hunter parameter 'L' starting from the 12<sup>th</sup> day of storage in the area of the fruits exposed at solar radiation. The fruits stored at 13°C presented values significantly larger of mass loss, of respiration and activity PG in comparison to stored at 6°C. The activities of the enzyme PAL was higher in fruits stored at 6°C on the area of the fruits exposed to the sun. The temperature of storage and sun exposition also

influenced the activities of POD and PPO enzymes. It was found that the fruits storage at 13°C presented higher activity than fruits storage at 6°C. Regarding to the POD enzyme, it was found that its activity increased with the ripening of the fruits.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de frutas. Mas, infelizmente, o país não é um grande exportador porque não possui uma estrutura adequada para transporte desses alimentos. Esses produtos devem ser transportados sob refrigeração quando destinados ao mercado externo, tendo em vista a distância dos mercados.

A cultura comercial do mamão, no Brasil, teve grande impulso a partir de 1977 com a introdução do mamoeiro do grupo Solo (Brasil, 1994). A partir deste período, o Brasil foi o principal produtor com cerca de 25% da produção mundial, sendo as variedades Solo e Formosa as mais cultivadas (FAO, 2003; Simão, 1998). Basicamente dois grupos de variedades se destacam no cultivo de mamão: o grupo Solo e o grupo Formosa.

O uso de baixas temperaturas é considerado a principal técnica de pós-colheita para a conservação de frutas. Porém, danos fisiológicos provocados por temperaturas muito baixas, como a injúria pelo frio (“chilling injury”), podem comprometer a eficiência deste método.

Dentro desse contexto, existe a necessidade de mais pesquisas nesta área, ou seja, investigar os aspectos relacionados com a adequação da tecnologia de resfriamento para determinados tipos de produtos. Esse tipo de pesquisa torna-se necessário principalmente nos casos de frutas e hortaliças de origem tropical, em

que se dispõe de poucos dados sobre o assunto. Além disto, o prolongamento da conservação desses produtos é um fator de redução de custos e pode representar conquistas de mercados mais distantes.

O entendimento do processo da injúria pelo frio e sua relação com outros aspectos da fisiologia do fruto, bem como a sua interação com o meio ambiente é fundamental para que se possa fazer uso de métodos que minimizem ou evitem danos decorrentes dele, dentre eles o escurecimento enzimático.

O objetivo deste trabalho foi investigar o comportamento das enzimas fenilalanina amonialiase, polifenoloxidase, peroxidase e poligalacturonase em frutos de mamoeiro (*C. papaya* L.), cv. 'Golden', estocados a 6 e 13 °C por um período de 33 dias. Além disso, foi avaliado o efeito da região de exposição do fruto ao sol sob a expressão da atividade das enzimas, nestas mesmas condições.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Algumas considerações sobre os frutos do mamoeiro**

A Região Norte Fluminense possui um grande potencial de produção para fruticultura, incluindo o mamão (Almeida et al, 2003a).

A produção mundial de mamão, em 1999, foi de 5.296.504 t, sendo a do Brasil a maior, com 1.700.000 t; seguida da produção da Nigéria, com 751.000 t. (Agriannual, 2001).

A cultura comercial do mamão, no Brasil, 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 (Brasil, 1994). A partir deste período, o Brasil foi o principal produtor com cerca de 25% da produção mundial, segundo dados recentes da FAO; sendo as variedades Solo e Formosa as mais cultivadas (FAO, 2003; Simão, 1998). Basicamente dois grupos de variedades se destacam no cultivo de mamão: o grupo Solo e o grupo Formosa. Dentre as variedades do grupo Solo, destacam-se as cultivares 'Golden' Sunrise Solo, Improved Sunrise Solo Line 72/12 e Baixinho de Santa Amália. Do grupo formosa, destacam-se os híbridos Tainung 01, Tainung 02 e Tainung 03 (Brasil, 1994).

A produção nacional de frutos é destinada basicamente para o abastecimento do mercado interno, apresentando um caminho promissor rumo ao mercado internacional. Em 1999, o mamão representou cerca de 4% da produção nacional de frutas frescas, gerando uma receita de mais de 13 milhões de dólares

em exportações. O principal destino é o mercado europeu, contando ainda com outros mercados de destaque como Estados Unidos e Canadá. A área colhida brasileira, em 1999, foi de 38.890 ha com uma produção de 1.402.142 t de frutos (Mendes et al., 2002).

As maiores produções de mamão no Brasil ocorrem nos Estados da Bahia, Espírito Santo e Pará, com, respectivamente, 367.562 t, 197.840 t e 21.110 t (Agrianual, 2001).

O mamão é um fruto nutritivo que apresenta boas qualidades organolépticas. Segundo Simão (1998), este fruto apresenta em sua composição teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, água e açúcares. Possui ainda quantidades consideráveis de pró-vitamina A, vitaminas B1, B2, C e substâncias com atividade antioxidante como carotenóides, vitamina C, alguns minerais como ferro, cobre, zinco, selênio e, possivelmente, fibras (Cook e Samman, 1996).

Para que seja mantida a qualidade dos frutos de mamão, é necessário, além de condições adequadas de cultivo, que sejam colhidos na época e estágio de maturação adequados e manuseados corretamente após a colheita. A qualidade do fruto depende do estágio de maturação, o que influencia muito na sua vida útil pós-colheita. Colheitas realizadas antes dos frutos atingirem completa maturação fisiológica prejudicam o seu processo de amadurecimento, afetando a sua qualidade (Fagundes e Yamanishi, 2001). Por outro lado, a colheita de frutos totalmente maduros reduz sua vida útil e dificulta o seu manuseio e transporte, devido a sua baixa resistência física, causando perdas quantitativas e qualitativas (Chitarra e Chitarra, 1990). Sendo assim, é importante a determinação do ponto ideal de colheita, o que proporciona a obtenção de frutos de boa qualidade reduzindo as perdas.

O manuseio de frutos do mamoeiro, após a colheita, requer muito cuidado visto que esses frutos são susceptíveis a uma série de fatores que podem depreciá-los comercialmente. Dentre eles, destacam-se extremas flutuações de temperatura e umidade, pragas e doenças e danos mecânicos (Tatagiba et al. e Oliveira, 2002).

Frutos de origem tropical, como o mamão, são de difícil manuseio nas etapas compreendidas entre a colheita e o mercado consumidor. A rapidez com que amadurecem e a grande distância que enfrentam para serem transportados até o

centro consumidor demandam manuseio especial. Para o mercado interno ou exportação para países vizinhos, uma alternativa para prolongar a vida útil desse tipo de produto é o uso do transporte refrigerado (Awad, 1993).

Na exportação para outros continentes, as alternativas são os transportes por via aérea, que reduz o período de trânsito, ou, com o uso de refrigeração, por via marítima. O transporte refrigerado por via marítima apresenta a vantagem de possibilitar uma redução nos custos de exportação, mas traz limitação pelo fato de o mamão ser altamente perecível e susceptível à injúria pelo frio (Marriott e Proctor, 1979).

## **2.2. Influência da temperatura sobre a conservação de frutos**

A temperatura é considerada o principal fator externo na conservação das frutas (Awad, 1993). A vida útil de produtos perecíveis é prolongada com o uso de baixas temperaturas porque elas mantêm, em um nível mínimo, os processos naturais como respiração, produção e ação do etileno e perda de água; além de retardar a maturação e a senescência das frutas (Botrel e Carvalho, 1993).

A cada aumento de 10 °C na temperatura, ocorre um aumento de 2 a 3 vezes na velocidade de deterioração dos produtos. Por outro lado, quando a temperatura encontra-se abaixo do nível tolerado para cada espécie, pode ocorrer perda do sabor e aroma, escurecimento da casca ou polpa e perda da capacidade de maturação. O dano causado por refrigeração inadequada é denominado de distúrbio fisiológico causado pelo frio, “chilling injury”, cujos sintomas, em abacaxi, são mais perceptíveis após a transferência do produto para o meio ambiente (Botrel e Carvalho, 1993). Um dos sintomas mais comuns deste distúrbio fisiológico é o aparecimento de pequenas áreas aprofundadas e moles na superfície dos frutos (“pitting”) devido ao colapso celular. Estas áreas não apresentam a cor típica da casca e facilitam a proliferação de agentes patogênicos. Outros sintomas comuns do “chilling” são o escurecimento da polpa e da casca, o aparecimento de coloração, sabores e odores estranhos e o amadurecimento anormal (Chitarra e Chitarra, 1990; Awad, 1993). Além desses sintomas, Almeida (2003) detectou um aumento da firmeza de polpa em mamões armazenados a 6 °C.

Os frutos possuem uma temperatura mínima de segurança, abaixo da qual os sintomas do “chilling” podem se manifestar. A temperatura baixa tem seu principal efeito no estado físico da membrana celular, sobretudo sobre a fluidez dos lipídeos. Estes são fluidos ou móveis sob temperatura alta, acima daquelas que provocam o distúrbio e, quando a temperatura encontra-se abaixo da crítica, os lipídeos mais saturados mudam de fase e tornam-se gelatinosos e imóveis. Esta mudança provoca a separação de fases em certas áreas da membrana e afeta consideravelmente as suas propriedades físico-bioquímicas e a integridade, originando uma série de respostas como a elevação na taxa de produção de etileno, aumento na respiração e distúrbios no metabolismo (Chitarra e Chitarra, 1990; Awad, 1993). O aparecimento dos sintomas de “chilling” é dependente do grau de sensibilidade dos frutos, da temperatura e do tempo de exposição a ela (Chitarra e Chitarra, 1990).

A sensibilidade ao escurecimento interno está estreitamente ligada à composição química do fruto. As condições climáticas, estágios de maturação, tamanho do fruto, diferenças varietais e nutrição mineral exercem influência acentuada na composição química e, conseqüentemente, podem influenciar no grau de escurecimento interno dos frutos (Botrel e Carvalho, 1993).

A maioria das plantas sofre de ambos os danos, tanto o fisiológico quanto o bioquímico, por exposição a temperaturas mais altas ou mais baixas (Lyons, 1973; Grace et al., 1998). Os resultados destes danos são refletidos na maioria dos processos metabólicos (Anderson et al., 1994; Prasad et al., 1994a, 1994b), que pode ocasionar uma reduzida capacidade de crescimento das culturas, o que, conseqüentemente, abaixa o rendimento comercial (Wang, 1982).

O estresse térmico induz a produção de compostos fenólicos, como flavonóides e fenilpropanóides (Nozolillo et al., 1990). Estes compostos estão largamente distribuídos em plantas e são proeminentes nos frutos, onde exercem influência na cor e “flavor” (Van Buren, 1970). Esses compostos e seus precursores têm sido associados aos distúrbios causados pelas baixas temperaturas em várias espécies vegetais. A refrigeração induz modificações nos compostos fenólicos, como a oxidação, que podem transformá-los em substratos, co-fatores ou inibidores da atividade enzimática. Lacoeyilhe (1982) e Van Lelyveld e De Bruyn (1977) verificaram que os frutos com escurecimento interno apresentaram maiores teores de



compostos fenólicos que os frutos sadios. Estes compostos constituem uma etapa importante na formação de outros compostos fenólicos mais complexos.

Os compostos fenólicos podem ser oxidados pela peroxidase (POD) e, principalmente, pela polifenoloxidase (PPO). Estas enzimas aumentam suas atividades em resposta a diferentes tipos de estresse, tanto bióticos quanto abióticos (Kwak et al., 1996; Smith-Becker et al., 1998; Ruiz et al., 1998 e 1999). Mais especificamente, ambas enzimas foram relacionadas com o surgimento de injúrias causadas em plantas por estresse térmico (Lyons, 1973; Grace, et al., 1998; Lafuente et al., 1997; Cohen et al., 1988; Ke e Salveit, 1988).

A fenilalanina amonialiase (PAL) é uma enzima que também eleva sua atividade em resposta a estresse térmico e é considerada, pela maioria dos autores, como uma das principais linhas de aclimação da célula contra estresse em plantas (Levine et al., 1994; Leyva et al., 1995). Ela é considerada como a principal enzima da rota fenilpropanóide, catalisando a transformação pela desaminação da L-fenilalanina até ácido trans-cinâmico, que é o principal intermediário na biossíntese de fenóis (Levine et al., 1994).

### **2.3. Enzimas envolvidas no escurecimento de frutos**

O escurecimento resulta tanto de oxidação enzimática quanto de oxidação não-enzimática de compostos fenólicos. O escurecimento normalmente prejudica as propriedades sensoriais dos produtos devido a alterações na coloração, sabor e aroma. Além disso, o amaciamento dos frutos devido à ação de enzimas pécicas pode acelerar também o escurecimento enzimático. Uma vez que as paredes celulares e as membranas celulares perdem sua integridade, a oxidação enzimática ocorre muito mais rapidamente (Martinez e Whitaker, 1995).

Os fatores mais importantes que determinam a taxa de escurecimento enzimático de frutas e vegetais são as concentrações de enzimas envolvidas neste processo, quantidade de compostos fenólicos presentes, pH, temperatura e a disponibilidade de oxigênio do tecido. O entendimento dos detalhes do processo de escurecimento enzimático é necessário para controlá-lo a fim de se obter um produto final que seja aceitável aos consumidores (Martinez e Whitaker, 1995).

### **2.3.1. Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (POD)**

A PPO é uma enzima que catalisa duas reações: a hidroxilação de monofenóis a *o*-difenois e a oxidação de *o*-difenois a quinonas. Estas *o*-quinonas são compostos altamente reativos que evoluem não-enzimaticamente para produzir pigmentos marrons, negros ou vermelhos comumente chamados de melaninas, os quais são responsáveis pela diminuição da aparência atraente e a perda na qualidade nutricional (Tomás-Barberán e Espín, 2001).

A PPO (1,2-benzenodiol: oxigênio oxidoreductase; EC 1.10.3.1) é uma enzima que contém cobre na sua estrutura. É conhecida também como catecol oxidase, catecolase, difenol oxidase, *o*-difenolase, fenolase e tirosinase. Essa enzima é encontrada na maioria das plantas superiores, incluindo trigo, chá, batata, abóbora, alcachofra, alface, ervilha, mamão, uva, pêra, manga e maçã, como também em sementes como as de cacau. Embora o papel da polifenoloxidase nos vegetais seja controverso, esta enzima está associada à resistência de algumas plantas ao ataque de microrganismos, pois, de um modo geral, as quinonas produzidas pela oxidação dos compostos fenólicos são tóxicas (Martinez e Whitaker, 1995).

Uma outra enzima oxidativa importante do reino vegetal é a peroxidase (EC 1.11.1.7). Esta heme-enzima está normalmente associada a processos de cura de ferimentos como a lignificação (López-Serrano e Ros-Barceló, 1995). Ela atua como oxidante de elétron-único de compostos fenólicos na presença de peróxido de hidrogênio (Dunford e Stillman, 1976). O possível papel dessa enzima, na formação de melanina, foi questionado devido ao baixo conteúdo de peróxido de hidrogênio de tecidos vegetais. Porém, a geração de peróxido de hidrogênio, na oxidação de alguns compostos fenólicos catalisados pela PPO, poderia indicar uma possível ação sinérgica entre a PPO e a POD, o que sugere o envolvimento da POD no processo de escurecimento (Subramanian et al. 1999).

A POD também está associada ao mecanismo de resistência de algumas plantas e tem uma função importante na biossíntese da lignina. Ambas, PPO e POD, necessitam do oxigênio para oxidar seus substratos (Cantos et al., 2002).

Quando um vegetal sofre danos mecânicos ou ataque de organismos, geralmente há um acréscimo na respiração. Tanto o volume de CO<sub>2</sub> como o consumo de O<sub>2</sub> aumentam. Embora o mecanismo da maior liberação de CO<sub>2</sub> não esteja esclarecido, foi observado, em algumas plantas, que o maior consumo de O<sub>2</sub> deve-se, em parte, a um aumento na atividade das enzimas PPO e POD, que quase sempre estão associadas ao rompimento dos tecidos (Amorim, 1985).

### **2.3.2. Fenilalanina amonialiase (PAL)**

As amônias liases são enzimas que catalisam a metabolização não oxidativa dos grupos amino dos aminoácidos. A mais bem estudada destas enzimas é a PAL, que está comprometida na formação dos vasos do xilema (Amorim, 1985).

A PAL é responsável pela desaminação de fenilalanina, levando à formação de ácido trans-cinâmico. Este composto está envolvido na biossíntese de produtos secundários, como lignina, tanino, melanina, etc. (Amorim, 1985). Sendo uma enzima chave na biossíntese de compostos fenólicos, a PAL (EC. 4.3.1.5) também está associada ao escurecimento e ao acúmulo de ácido clorogênico e materiais, como a lignina (Hahlbrock e Scheel, 1989).

O conhecimento da atividade de PAL e, desta forma, da biossíntese de compostos fenólicos no sítio de injúria de frutas e vegetais é também importante no controle do escurecimento enzimático causado por tratamentos pós-colheita (Martinez e Whitaker, 1995).

A PAL é uma enzima induzida por ferimento; sua atividade aumenta devido a injúrias celulares provocadas durante o processamento mínimo (Saltveit, 1997). Um aumento na atividade da PAL provoca um aumento na concentração de compostos fenólicos, os quais são substratos para enzimas oxidativas como a PPO e POD (Cantos et al., 2002).

## **2.4. Enzimas envolvidas no amadurecimento de frutos**

O processo de amolecimento é parte integrante do amadurecimento de quase todos os frutos e tem grande importância comercial devido ao fato de a vida

pós-colheita ser limitada, em grande parte, pelo aumento do amolecimento, que os torna mais susceptível a injúrias mecânicas e a doenças, durante o manuseio pós-colheita (Bicalho et al., 2000).

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 a classe de polissacarídeos da estrutura da parede celular, que sofre a mais marcante modificação 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 pectolíticas, degradam 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).

Na maioria dos frutos, a atividade da PG aumenta durante o amadurecimento concomitantemente com um aumento na maciez do fruto e a solubilização de poliuronídeos de parede (Hobson, 1981; Huber, 1983). Além disto, D'Innocenzo (1996) investigou, em mamões, as atividades da poligalacturonase e da pectinametilesterase em vários estágios de desenvolvimento dos frutos e observou que o amolecimento ocorria quando a atividade da pectinametilesterase era mínima e da PG era máxima.

O amolecimento do mamão acontece no período de 6 a 12 dias, em que se observam o início do desaparecimento da cor verde juntamente com o aparecimento de alguns traços de coloração amarela na extremidade basal. As mudanças texturais são atribuídas à atividade de enzimas que degradam a parede celular e não à degradação de amido, uma vez que já foi constatado que o fruto não acumula este constituinte durante a ontogenia (Chan et al., 1979, 1981).

## **2.5. Exposição dos frutos ao sol**

O excesso de energia luminosa pode danificar os sistemas fotossintéticos, porém, alguns mecanismos poderiam minimizar estes danos. Os carotenóides funcionam como agentes protetores eliminando rapidamente o estado excitado das clorofilas. Sob algumas condições, os sistemas fotossintéticos não são capazes de lidar com toda a energia incidente. O excesso de energia pode conduzir a uma produção de espécies tóxicas e danificar o sistema se dele não for adequadamente dissipado. Isto está a cargo de um grupo complexo de mecanismos regulatórios e de reparos (Taiz e Zeiger, 1998).

Alguns desses mecanismos regulam o fluxo de energia, no sistema antena, para prevenir o excesso de excitação dos centros de reação e assegurar que os dois fotossistemas sejam igualmente direcionados. Embora muito eficientes, esses processos não são inteiramente simples e, às vezes, espécies tóxicas de oxigênio são produzidas. Mecanismos adicionais são necessários para dissipar estes compostos tóxicos (Taiz e Zeiger, 1998).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Matéria-prima**

Frutos de mamão (*Carica papaya* L.) do grupo Solo, variedade Golden, foram utilizados neste trabalho. Eles foram provenientes da empresa Calimam Agrícola, situada no município de Linhares, Espírito Santo. Os frutos foram colhidos no estágio de maturação 1, quando o fruto ainda apresentava apenas uma faixa amarelada em sua superfície. Os frutos foram marcados com caneta pincel para que se diferenciasse a região dos frutos que ficaram expostas à radiação solar durante seu desenvolvimento no campo. Receberam tratamentos pós-colheita como mostrado no fluxograma da Figura 1 e, posteriormente, foram transportados em caminhão refrigerado para o Laboratório de Tecnologia de alimentos (LTA/CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, onde todos os experimentos foram realizados.

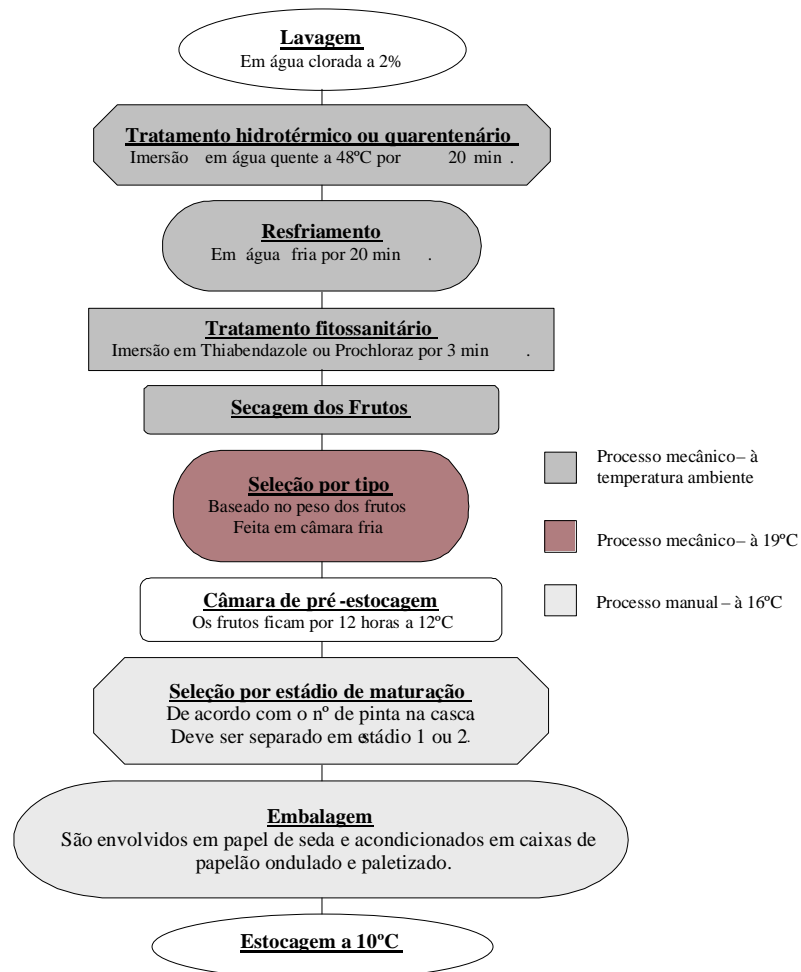


Figura 1 – Fluxograma das etapas de preparação do mamão para exportação (Oliveira, 2002).

### 3.2. Armazenamento dos frutos

Os frutos foram pesados assim que chegaram ao laboratório de tecnologia de alimentos. Posteriormente, foram acondicionados individualmente em filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD), com dimensões de 26 x 18 cm e capacidade para um volume aproximado de 2 litros, e selados com seladora a vácuo AP 450. Os frutos foram, então, armazenados em duas incubadoras dotadas de sistema de ventilação (BOD), com temperaturas de 6°C/85-95%UR e 13°C/85-95%, por um período de 33 dias. A cada período de 6 dias de armazenamento, os frutos, num total de 6 por tratamento, foram retirados aleatoriamente para se medir a concentração de CO<sub>2</sub>. Posteriormente, foram retirados da embalagem para as determinações

enzimáticas, determinação de cor da casca e perda de massa. Após a retirada de amostras dos frutos, o material, após o envolvimento em papel alumínio, foi rapidamente congelado em nitrogênio líquido.

Optou-se pelas temperaturas de armazenamento 6 e 13 °C por serem estas temperaturas a de aparecimento do 'chilling' e a ótima temperatura de armazenamento do mamão, respectivamente.

### **3.3. Análises estatísticas**

Os dados foram interpretados por análise de variância e foi aplicado o teste de Tukey ao nível de significância de 5% para a comparação das médias. Para as determinações enzimáticas e modificação de coloração dos frutos, utilizou-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) no esquema fatorial 2 x 2 x 6, que consistiu de 2 temperaturas de armazenamento (6 e 13 °C), 2 regiões distintas do fruto (região exposta ao sol e região não exposta ao sol), 6 períodos de avaliação com intervalos de seis dias de armazenamento a partir do dia de chegada dos frutos ao laboratório, sendo 6 repetições de cada período. Para perda de peso e variação de CO<sub>2</sub>, também se utilizou o DIC no esquema fatorial 2X6, cujos fatores foram 2 temperaturas de armazenamento (6 e 13 °C), 6 períodos de avaliação com intervalos de seis dias e 6 repetições para cada temperatura analisada.

### **3.4. Perda de massa (PM)**

A perda de massa foi determinada entre os valores das massas dos frutos medidos no dia de chegada ao laboratório e sua massa ao final de cada período de armazenamento. Esta pesagem foi realizada em balança semi-analítica Gehaka, modelo BG 2000, e o cálculo foi efetuado conforme a fórmula a seguir:

$$PM (\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100, \text{ onde:}$$

$M_i$  = Massa inicial do fruto

$M_f$  = Massa final do fruto



### **3.5. Determinação de CO<sub>2</sub>**

A concentração de CO<sub>2</sub> no interior da embalagem foi determinada por absorção infravermelha não-dispersiva, utilizando o analisador infravermelho URAS 14 do Laboratório de Ciências Físicas do Centro de Ciências Tecnológicas - UENF. O processo baseia-se na absorção de ressonância do espectro característico da rotação das bandas de vibração de gases não-elementares, na faixa infravermelha mediana entre 2 μm e 12 μm. Devido ao seu momento bipolar, as moléculas dos gases interagem com as emissões infravermelhas. Por seletividade, o receptor é preenchido com os componentes aplicáveis da amostra para estabelecer a sensibilidade a estes componentes (Dias, 2003).

O método consistiu da coleta de alíquotas de 20 mL de gás de dentro do filme que embalava os frutos, utilizando-se uma seringa e uma agulha (marca BD) de 20 mL. Em seguida, o conteúdo da agulha foi injetado no aparelho para a leitura direta da concentração de CO<sub>2</sub>.

Os valores das concentrações de CO<sub>2</sub> foram expressos em porcentagem de volume.

### **3.6. 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 quatro pontos distintos na parte equatorial dos frutos, sendo duas na parte dos frutos exposta ao sol e as outras duas na parte não exposta ao sol. Os resultados foram expressos na proporção dos parâmetros de Hunter "L" (luminosidade), "a" e "b" (cromaticidade). Esse equipamento atribui à 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) a 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 equivalem à cor cinza.

### 3.7. Ensaio enzimáticos

Para a realização dos ensaios enzimáticos, amostras foram removidas da região externa do mesocarpo dos frutos, segundo metodologia discutida por Resende et al. (2003). Os frutos foram cortados e as amostras foram pesadas em balança semi-analítica Gehaka, modelo BG 2000 , embaladas em papel alumínio e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Em seguida, foram estocadas em ultra-freezer a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O corte para a amostragem dos frutos foi feito paulatinamente para evitar a ativação do processo enzimático do tecido.

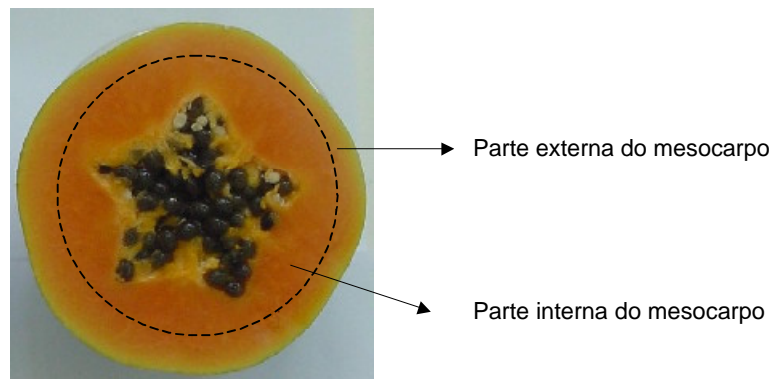


Figura 2 – Divisão do mesocarpo em partes externa e interna.

#### 3.7.1. Polifenoloxidase (PPO)

Para a extração da enzima PPO, uma modificação do método proposto por Matsumo e Uritani (1972) foi utilizada. Dez gramas da polpa foram removidos da parte externa do mesocarpo dos frutos (Figura 2). Esta amostra foi triturada e homogeneizada durante dois minutos, em Turrax, com 30 mL de solução gelada de tampão fosfato de sódio 0,2 M, pH 7,0, contendo 1,0 M de NaCl. Posteriormente, esta solução foi filtrada em duas camadas de tecido de algodão e o filtrado, centrifugado a 15.000 g por 15 minutos em uma centrífuga refrigerada a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

A determinação da atividade da polifenoloxidase foi realizada segundo uma modificação do método proposto por Teisson (1979), no qual 0,5 mL do

sobrenadante foi adicionado a um tubo de ensaio contendo 1,8 mL de tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0 e 0,05 mL de catecol 10 mM. Após a incubação desta mistura por 30 minutos a 30 °C, a reação foi paralisada adicionando-se 0,8 mL de ácido perclórico 2 N. A variação da absorbância (densidade ótica - DO) a 395 nm foi medida contra um branco, com água em vez da enzima, utilizando o espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV Mini 1240. Uma unidade da enzima foi definida como a variação da absorbância por minuto. Os níveis da atividade enzimática foram expressos em unidade por grama de polpa (U/g).

### **3.7.2. Peroxidase (POD)**

Para a extração da enzima POD, o mesmo procedimento descrito para a extração da polifenoloxidase foi utilizado. A determinação da atividade enzimática foi uma modificação do método de Matsumo e Uritani (1972) e consistiu de uma mistura de 3,0 mL do extrato enzimático, 5,0 mL de tampão fosfato-citrato 0,1 M (pH 5,0), 0,5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% e 0,5 mL de guaiacol 1%. Após a incubação desta mistura a 30 °C, um período de 5 minutos, a reação foi paralisada adicionando-se 1,0 mL de bissulfito de sódio a 30%. A variação da absorbância (densidade ótica - DO) a 470 nm foi medida contra um branco, com água em vez de da enzima, utilizando o espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV Mini 1240. Uma unidade da enzima foi definida como a variação da absorbância por minuto. Os níveis da atividade enzimática foram expressos em unidade por grama de polpa (U/g).

### **3.7.3. Fenilalanina amonialiase (PAL)**

A extração da enzima PAL e a determinação de sua atividade foi realizada utilizando-se uma modificação do método proposto por Zhou et al. (2003). Para a extração da enzima, 10 g da polpa foram removidos dos frutos, como mostrado anteriormente. Esta amostra foi triturada e homogeneizada durante 6 minutos, a 4 °C, em Turrax, com 15 mL de solução tampão borato 0,1 M, pH 8,8, contendo 5 mM de β-mercaptoetanol, 2 mM de EDTA e 1% de PVPP. Em seguida, esta solução foi

filtrada em 2 camadas de tecido de algodão e o filtrado, centrifugado a 12.500 rpm por 15 minutos em uma centrífuga refrigerada a 6 °C.

Para a determinação da atividade enzimática, 0,25 mL do sobrenadante foram adicionados a uma solução contendo 2,75 mL de L-fenilalanina 60 mM em tampão borato 0,1 M, pH 8,8. O substrato foi pré-incubado a 40 °C por 15 minutos antes da mistura com o extrato enzimático. Em seguida, a mistura foi incubada a 40°C por uma hora e, ao final deste período, a reação foi paralisada adicionando-se 0,1 mL de HCl 6 N. A variação da absorbância (densidade ótica - DO) a 290 nm foi medida contra um branco, com água em vez da enzima, utilizando o espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV Mini 1240. Uma unidade da enzima foi definida como a variação da absorbância por minuto. Os níveis da atividade enzimática foram expressos em unidade por grama de polpa (U/g).

#### **3.7.4. Poligalacturonase (PG)**

Para a extração da enzima PG, dez gramas da polpa foram removidos da porção externa dos frutos, como mostrado anteriormente. Essa amostra foi triturada e homogeneizada durante 6 minutos, a 4 °C, em Turrax, com 20 mL de solução tampão de citrato de sódio 0,1 M, pH 4,6 gelado, contendo 1 M de NaCl, 13 mM de EDTA, 1,0 mM de  $\beta$ -mercaptoetanol e 1% de PVPP. Após 15 minutos de repouso a 1°C, esta solução foi filtrada em 2 camadas de tecido de algodão e o filtrado, centrifugado a 15.000 g por 30 minutos em uma centrífuga refrigerada a 1 °C.

A atividade da PG foi ensaiada adicionando-se 0,2 mL do sobrenadante a uma solução de 2,0 mL de tampão acetato de sódio 0,04 M (pH 5,0) contendo 0,45% de ácido poligalacturônico e 0,1% de caseína. Em seguida, esta mistura foi incubada a 37 °C e, após o período de uma hora, a reação foi paralisada pela adição de 1,0 mL de ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS). Em seguida, esta mistura foi colocada em água em ebulição por 10 minutos e resfriada em banho de gelo. A coloração desenvolvida foi medida através de espectrofotômetro SHIMADZU UV-mini 1240 utilizando comprimento de onda de 540 nm. O mesmo procedimento foi realizado com um controle, exceto que o reagente de Miller (DNS) foi adicionado juntamente com o sobrenadante à solução tampão.

O teor de açúcares redutores (glicose) foi determinado através de uma curva padrão de glicose. Os níveis da atividade enzimática foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de glicose por minuto, por grama de fruto, nas condições do ensaio.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Influência da temperatura de estocagem e da exposição dos frutos ao sol sobre a coloração

#### 4.1.1. Parâmetro de Hunter “a”

Segundo o resultado da análise de variância (ANOVA) para o parâmetro de Hunter “a”, houve efeito significativo para temperatura de armazenamento, região de exposição ao sol, período de armazenamento e interação entre eles a 5% de probabilidade pelo Teste F (Apêndice – Quadro 1A).

As médias obtidas para o parâmetro de Hunter “a” das regiões exposta e não exposta ao sol dos frutos, acondicionados à temperatura de 6 e 13 °C por um período de 33 dias, são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Médias do parâmetro “a”, obtidas das regiões exposta (E) e não exposta (NE) ao sol dos frutos, acondicionados a 6 e 13 °C, durante um período de 33 dias

Tratamento	Período de Armazenamento (dias)					
	0	6	12	18	24	33
6 °C E	-5,63c	-2,89a	-4,03abc	-4,15abc	-4,72bc	-3,54ab
6 °C NE	-6,04c	-3,39b	-1,93ab	-3,24b	-0,94a	-1,84ab
13 °C E	-5,63e	-3,67cd	-4,79de	-1,43b	-2,51bc	5,27a
13 °C NE	-6,04d	-4,15cd	-3,99cd	-3,01c	-0,41b	3,05a

As médias seguidas de uma mesma letra numa mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

A Figura 3 mostra o gráfico com o comportamento do parâmetro de Hunter “a”, ao longo do período de armazenamento, para os tratamentos analisados.

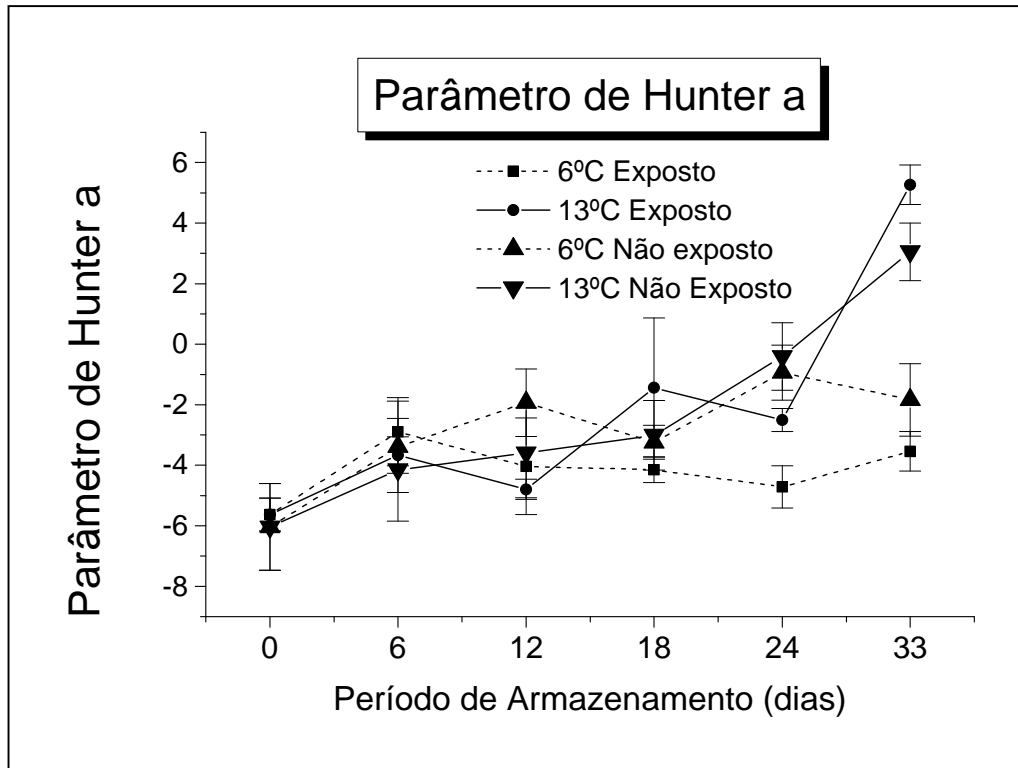


Figura 3 - Parâmetro de Hunter a das regiões exposta e não exposta ao sol de frutos armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por 33 dias.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, os frutos armazenados a 6 °C, a região dos frutos exposta ao sol sofreu um aumento médio de aproximadamente 31%, enquanto que a região não exposta ao sol apresentou um aumento médio de aproximadamente 62%, permanecendo os valores negativos até o final do armazenamento. Por outro lado, os frutos armazenados a 13 °C, tanto para a região exposta quanto para a não exposta ao sol, ao final de sua estocagem, apresentaram valores positivos ao final do armazenamento. Em termos percentuais isto representou aproximadamente 75% de aumento médio para a região dos frutos exposta ao sol e aproximadamente 72% de aumento médio para a região dos frutos não exposta ao sol. Como já mencionado anteriormente na seção 3.6, o parâmetro “a” é avaliado na faixa de coloração verde (sinal negativo) ao vermelho (sinal positivo). Assim, os frutos estocados a 6 °C apresentaram, ao final da estocagem por

33 dias, uma coloração verde, enquanto que aqueles estocados a 13 °C, uma coloração na faixa do vermelho. Estes resultados mostram que os frutos armazenados a 13 °C apresentaram a perda de coloração verde da casca, sugerindo que houve uma evolução da maturação destes frutos nos últimos quinze dias de armazenamento (Figuras 6 e 7). Segundo Chitarra (1994), com o avanço da maturação há a perda completa do verde com aparecimento de pigmentos amarelos, vermelhos ou púrpuros.

A perda da cor verde é uma indicação importante do estágio de maturação de muitos frutos. No início, a cor muda gradualmente de verde-escuro para verde-claro; em seguida, ocorre o desaparecimento desta cor e o surgimento de pigmentos amarelos, alaranjados e vermelhos. Estes, por sua vez, podem estar presentes junto com a cor verde, sendo revelados somente após a destruição da clorofila, ou ser sintetizados durante a maturação. Ao mesmo tempo em que desaparece a cor verde, podem ser revelados ou sintetizados pigmentos amarelos, alaranjados e vermelhos, que pertencem ao grupo dos carotenóides. Estes compostos são muito estáveis e permanecem nos tecidos durante a senescência. Os de cor amarela são bastante comuns e sua presença é um sinal geral por meio do que o consumidor julga a maturidade e a qualidade de muitos frutos (Awad, 1993). Embora as alterações na coloração dos frutos sejam utilizadas como guia de maturidade, não são inteiramente confiáveis porque sofrem influência de inúmeros fatores, além da maturação. A exposição à luz solar, por exemplo, pode induzir o desenvolvimento de cor mais rapidamente em alguns frutos que em outros, na mesma árvore, embora eles possam ter a mesma época de formação (Chitarra, 1994).

Com relação à região dos frutos exposta ao sol, foi observado que aqueles mamões armazenados a 6 °C apresentaram valores negativos para o parâmetro "a" até o final da estocagem por 33 dias, tanto para as regiões expostas como para as regiões não expostas ao sol. Os frutos armazenados a 13 °C, por outro lado, apresentaram valores positivos tanto para as regiões expostas quanto para as regiões não expostas ao sol, sugerindo que a temperatura pode ter influenciado este parâmetro mais que a exposição dos mamões ao sol. Entretanto, foi observado que, para aqueles frutos armazenados a 13 °C, houve diferença significativa para as partes que foram expostas ao sol já a partir do sexto dia de armazenamento. As



partes dos frutos não expostas ao sol apresentaram diferença significativa deste parâmetro a partir do vigésimo quarto dia de armazenamento, indicando a influência da luz solar sobre a coloração dos mesmos.

#### 4.1.2. Parâmetro de Hunter “b”

O resultado da ANOVA para o parâmetro de Hunter “b” mostrou que houve efeito significativo para temperatura de armazenamento, região de exposição ao sol, período de armazenamento e interação entre eles, a 5% de probabilidade pelo Teste F; exceto para interação entre a temperatura de armazenamento e a região de exposição ao sol, cujo resultado apresentado pela ANOVA foi não significativo (Apêndice – Quadro 1A).

O parâmetro de Hunter “b” revela uma evolução da coloração amarela dos frutos, que pode ser explicada pela degradação da clorofila pelas clorofilases, e um aumento no teor de carotenóides, até então encobertos pelas clorofilas (Awad, 1993).

As médias de variação do parâmetro de Hunter “b” da região exposta e da região não exposta ao sol dos frutos, acondicionados a temperaturas de 6 e 13 °C durante um período de 33 dias, são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2 – Médias do parâmetro de Hunter “b” obtidas dos frutos acondicionados a 6 e 13 °C, na região do fruto exposta (E) e na região não exposta (NE) ao sol, durante o período de armazenamento (33 dias)

Temp./ Expos.	Período de Armazenamento (dias)					
	0	6	12	18	24	33
6°C E	21,47c	23,61ab	22,90bc	24,85a	24,23ab	24,65a
6°C NE	28,34ab	27,38b	29,65a	28,80ab	28,32ab	28,24ab
13°C E	21,47e	22,41de	23,91cd	26,77b	25,05c	30,38a
13°C NE	28,34b	29,19b	28,87b	29,81b	28,80b	32,82a

As médias seguidas de uma mesma letra numa mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

Durante a estocagem dos frutos à temperatura de 6 °C, foi observado que as médias do parâmetro de Hunter “b” não sofreram variação, ao longo do período de

33 dias de armazenamento, para a região dos frutos que não foi exposta ao sol, como mostrado na Tabela 2 e na Figura 4. Este comportamento é uma indicação de que estes frutos não apresentaram uma evolução da coloração amarela (Figuras 6 e 7). Já as partes dos frutos expostas ao sol, após o sexto dia de estocagem, apresentaram um aumento desse parâmetro, mas que posteriormente não evoluiu. Estes resultados eram esperados uma vez que o desenvolvimento da coloração dos frutos está relacionado com a temperatura porque depende do metabolismo do fruto. O abaixamento da temperatura diminui a degradação da clorofila uma vez que causa uma redução na biossíntese e na ação do etileno (Abeles et al., 1992).

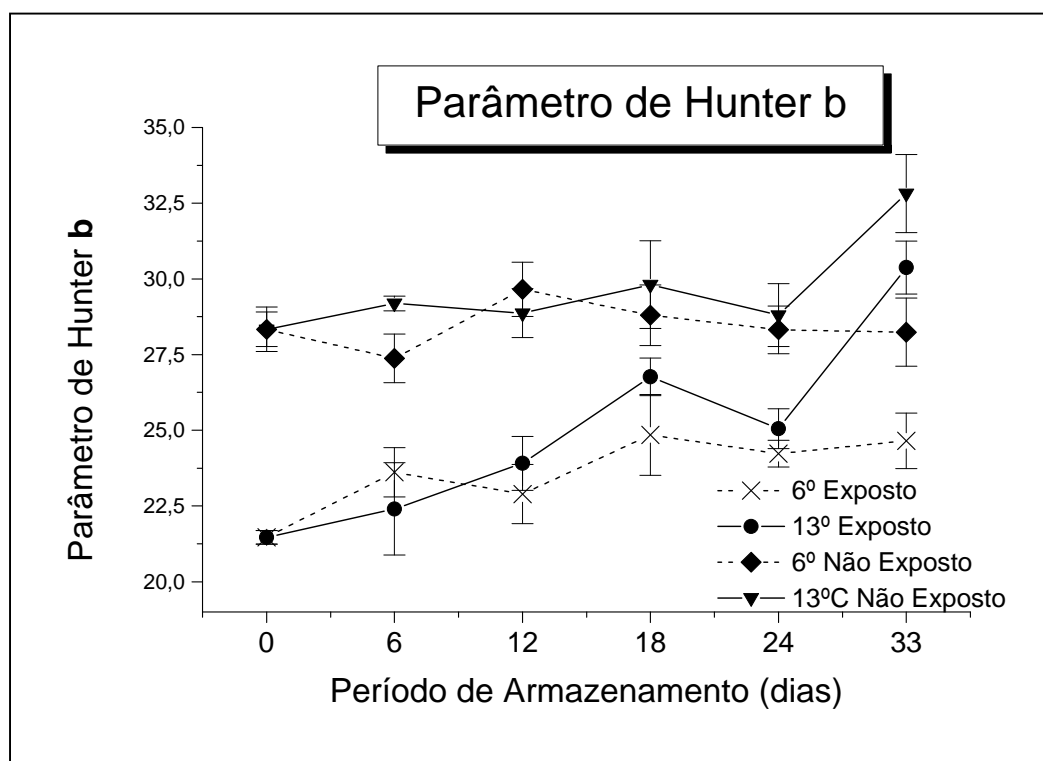


Figura 4 - Parâmetro de Hunter *b* das regiões exposta e não exposta ao sol de frutos armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por 33 dias.

Em relação aos frutos estocados a 13 °C, foi observado que eles tiveram uma maior evolução na coloração amarela e maturação que os frutos estocados a 6 °C. Segundo Kader (1987), a temperatura é um importante fator ambiental na vida pós-colheita do fruto por causa de seu efeito na taxa das reações biológicas, podendo reduzir ou aumentar a sua taxa respiratória e seu metabolismo acelerando ou retardando sua senescência. Ainda em relação aos frutos estocados a 13 °C, foi

observado um comportamento diferente entre a região dos frutos exposta ao sol e a região não exposta. A região dos mamões não exposta ao sol somente apresentou diferença significativa nas médias obtidas para o parâmetro “b” com 33 dias de armazenamento. Por outro lado, a região dos mamões exposta ao sol, no décimo oitavo dia de armazenamento, já apresentou um aumento desse parâmetro. Portanto, a exposição dos mamões à luz solar induziu o desenvolvimento da coloração amarela, nestas partes, mais rapidamente em relação às partes que não foram expostas. Os resultados mostrados na Tabela 2 mostram também que existe diferença da evolução da cor entre as duas regiões de exposição ao sol.

O desenvolvimento da coloração amarela deve-se ao surgimento de pigmentos que são sintetizados durante a maturação ou que poderiam estar presentes junto a cor verde, sendo revelados somente após a destruição da clorofila. Os pigmentos amarelos (alaranjados e vermelhos) pertencem ao grupo dos carotenóides, que são muito estáveis e permanecem nos tecidos durante a senescência. Os de cor amarela são bastante comuns e sua presença é um sinal geral por meio do que o consumidor julga a maturidade e a qualidade de muitos frutos.

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).

#### **4.1.3. Parâmetro de Hunter “L”**

Os valores do parâmetro de Hunter “L” variam de 0 a 100. Valores acima de 50 indicam tonalidades mais claras e valores abaixo de 50 indicam tonalidades mais escuras.

As médias obtidas para o parâmetro de Hunter “L” das regiões dos mamões expostas e não expostas ao sol, acondicionados a 6 e 13 °C durante um período de 33 dias, estão mostradas na Tabela 3.

Tabela 3 – Médias obtidas para o parâmetro de Hunter L das regiões dos mamões expostas (E) e não expostas (NE) ao sol, acondicionados a temperaturas de 6 e 13 °C por um período de 33 dias

Temperatura e Exposição	Período de Armazenamento (dias)					
	0	6	12	18	24	33
6°C E	47,06cd	50,03ab	46,02d	51,42a	49,51ab	48,85bc
6°C NE	58,34bc	57,00b	61,28a	57,69b	60,21a	56,99b
13°C E	47,06e	48,32de	50,49cd	51,99bc	53,91b	60,24a
13°C NE	58,34b	61,48b	60,87b	61,03b	62,07b	67,21a

As médias seguidas de uma mesma letra numa mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

A análise estatística das médias mostrou que houve interação entre os tratamentos das regiões expostas ao sol e o tempo de estocagem dos frutos para as duas temperaturas estudadas.

Os resultados apresentados na Tabela 3 mostram que o parâmetro de Hunter “L” foi maior, cerca de 16% em média, na região dos frutos que não foram expostas ao sol, tanto para aqueles estocados a 6 °C como para aqueles estocados a 13 °C. Além disso, foi observado que os frutos estocados a 13 °C apresentaram uma evolução da luminosidade da casca de maneira progressiva, variando de 47,06 para 60,24, aproximadamente 78% de aumento, indicando que os mesmos sofreram o processo de amadurecimento. Segundo Oliveira (2002), mamões da variedade Golden apresentaram valores médios do parâmetro de Hunter “L” para frutos completamente amadurecidos de 64,20 ( $\pm 2,04$ ). Este comportamento pode ser observado pelo gráfico da Figura 5.

De maneira semelhante aos resultados observados para os frutos estocados a 13 °C, os frutos estocados a 6 °C apresentaram também médias do parâmetro de Hunter “L” maiores na região não exposta ao sol, ao longo de toda a sua estocagem. Entretanto, ao contrário do observado para os frutos estocados a 13 °C, os frutos estocados a 6 °C não apresentaram uma evolução progressiva desse parâmetro, indicando que a temperatura de 6 °C inibiu o amadurecimento dos frutos durante o período estudado. Além disso, foi observado um decréscimo do parâmetro de Hunter

“L” entre o sexto e o décimo segundo dia de estocagem. Este decréscimo pode ser atribuído ao aparecimento da injúria pelo frio, que promove um pequeno escurecimento da casca (Figura 6-B).

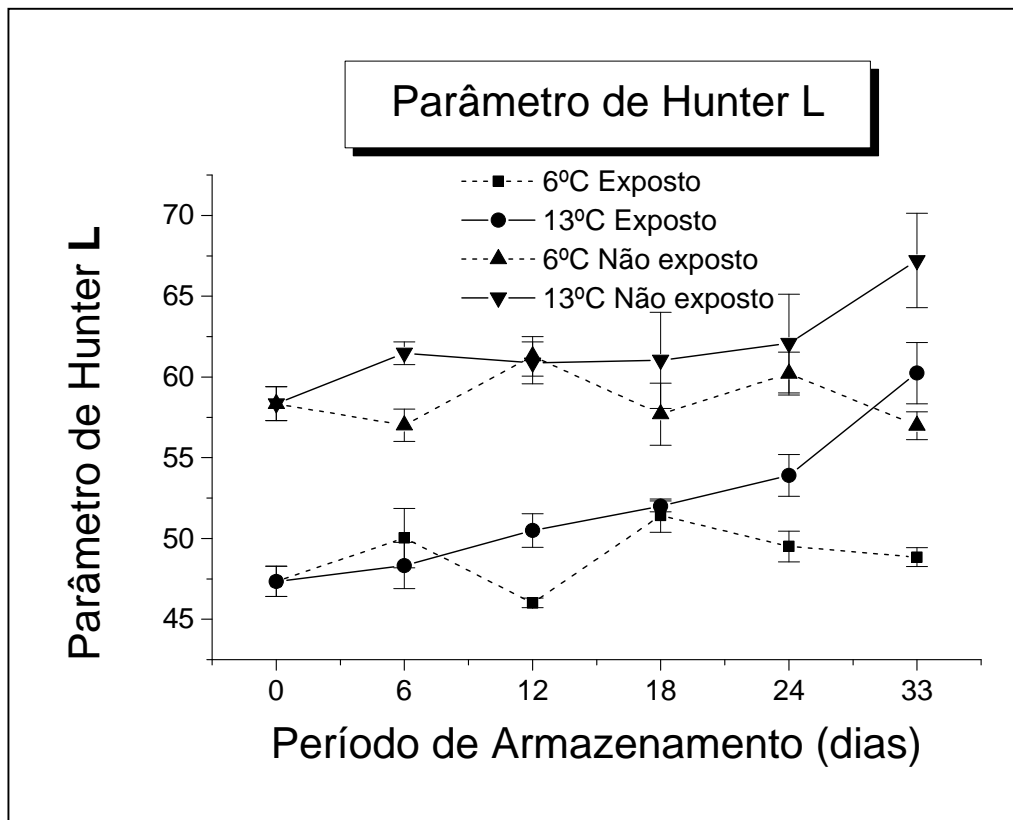


Figura 5 - Parâmetro de Hunter *L* das regiões exposta e não exposta ao sol de frutos armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por 33 dias.

Finalmente, na região não exposta ao sol, os frutos estocados a 6 °C apresentaram um aumento progressivo do parâmetro de Hunter “L” até o décimo segundo dia de armazenamento. Posteriormente, os valores oscilaram e decresceram no final da estocagem. Portanto, podemos sugerir que a exposição de determinada região dos frutos ao sol contribuiu para o aparecimento da incidência da injúria pelo frio. Seta et al., 2000 relataram sintomas de ‘chilling’ em mamões armazenados à temperatura de 5 °C. Pequenas pontuações (pitting) sobre a casca, após 15 dias de armazenamento, foram observadas (Figura 6-A), sendo que os sintomas foram mais severos quando os frutos foram transferidos para temperatura ambiente.

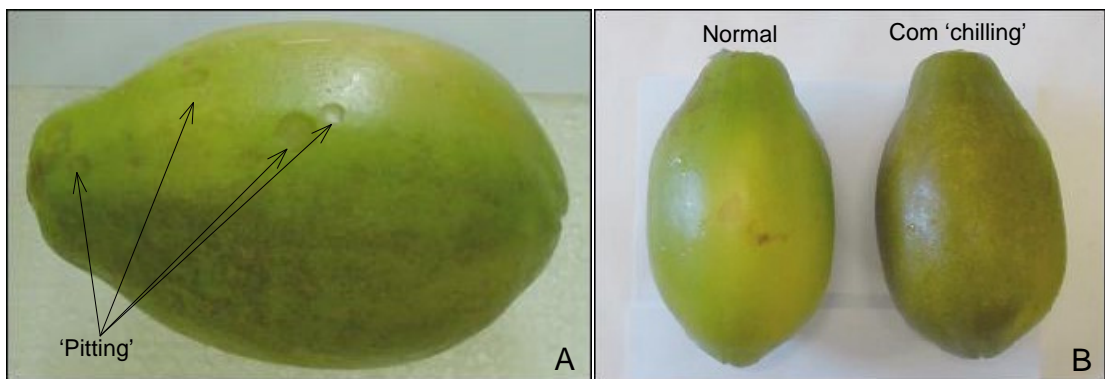
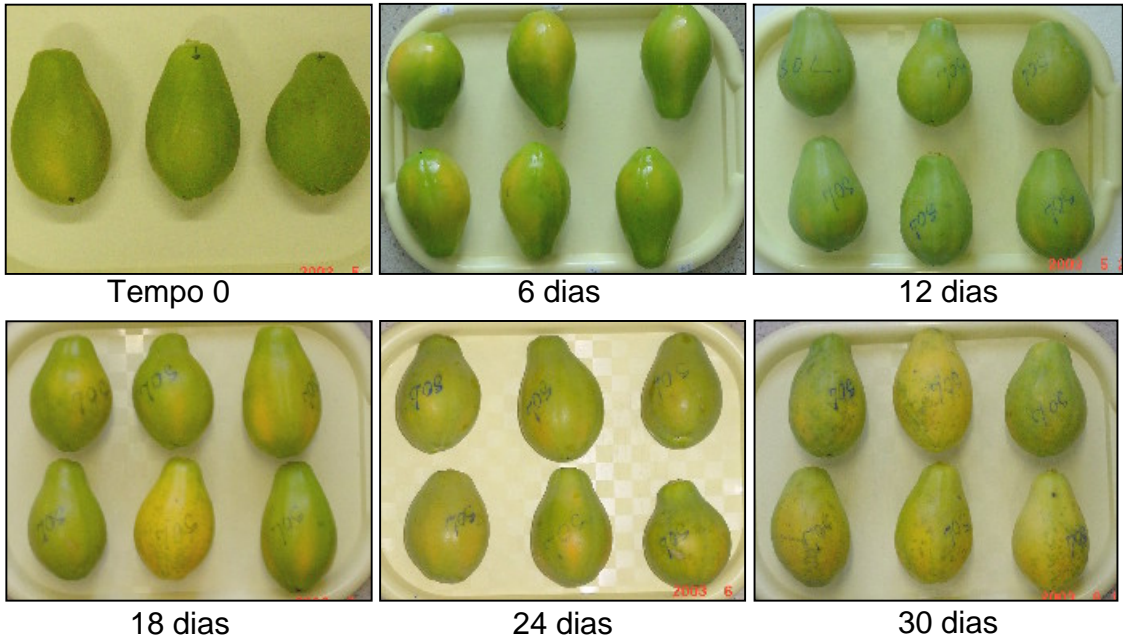


Figura 6 – Aparecimento de 'pitting' (fig. 6A) e da injúria pelo frio 'chilling' (fig. 6B), no décimo segundo dia de armazenamento, em frutos armazenados à temperatura de 6 °C.

Exposto ao sol 13°C



Não exposto ao sol 13°C

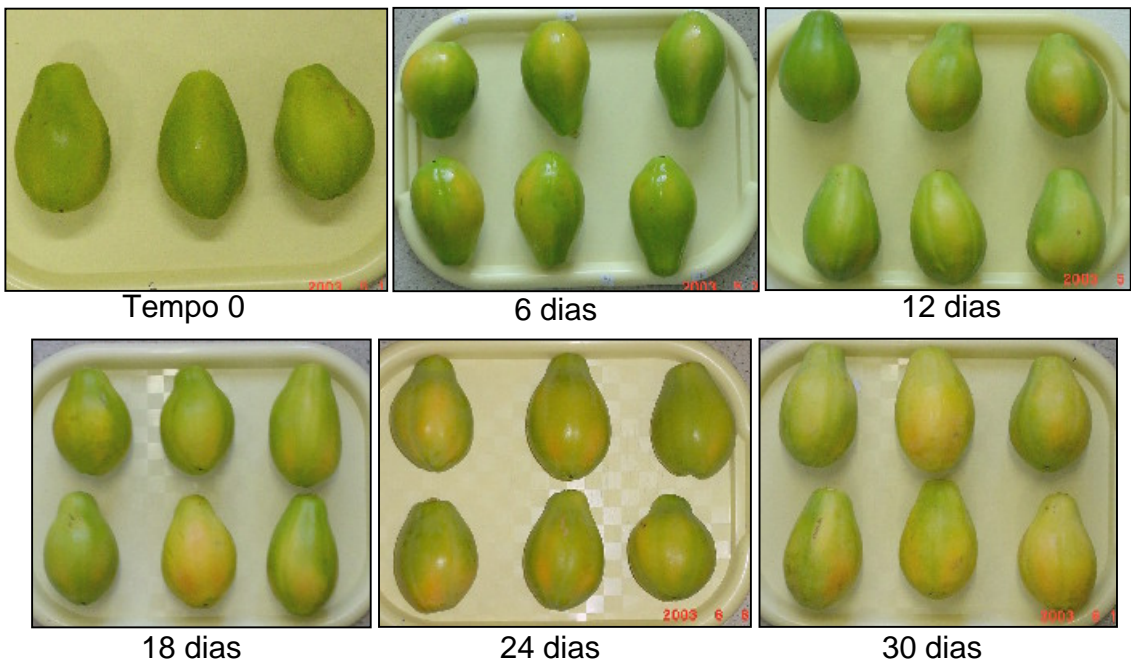
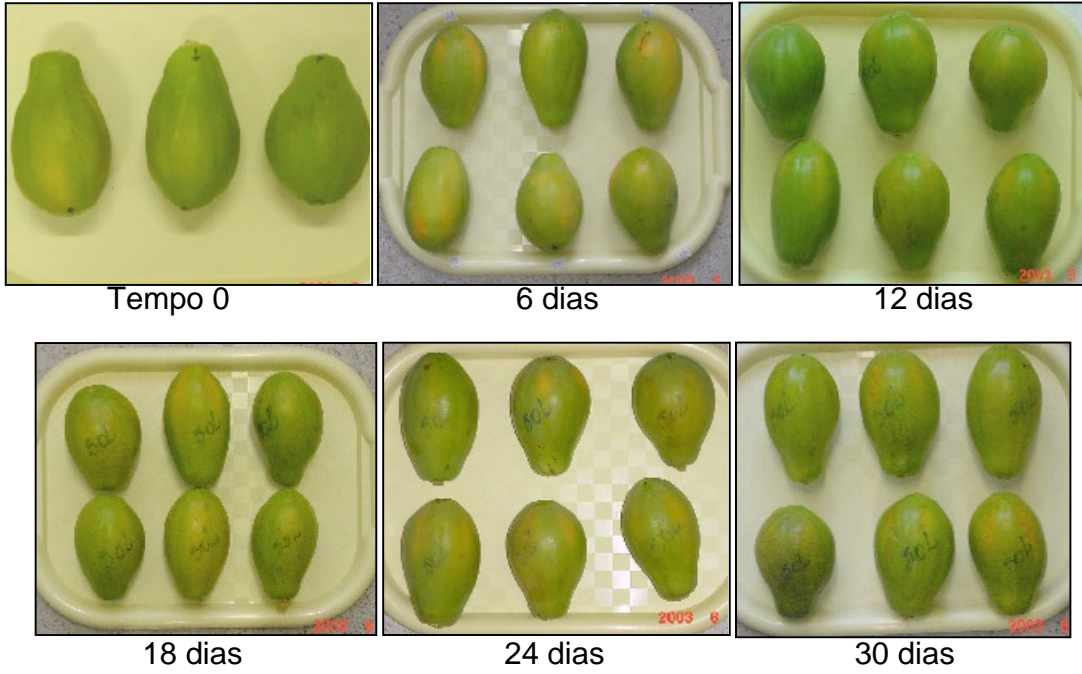


Figura 7 - Variação da coloração dos mamões nas regiões expostas e não expostas ao sol após sua estocagem à temperatura de 13 °C por 33 dias.

Exposto ao sol 6°C



Não exposto ao sol 6°C

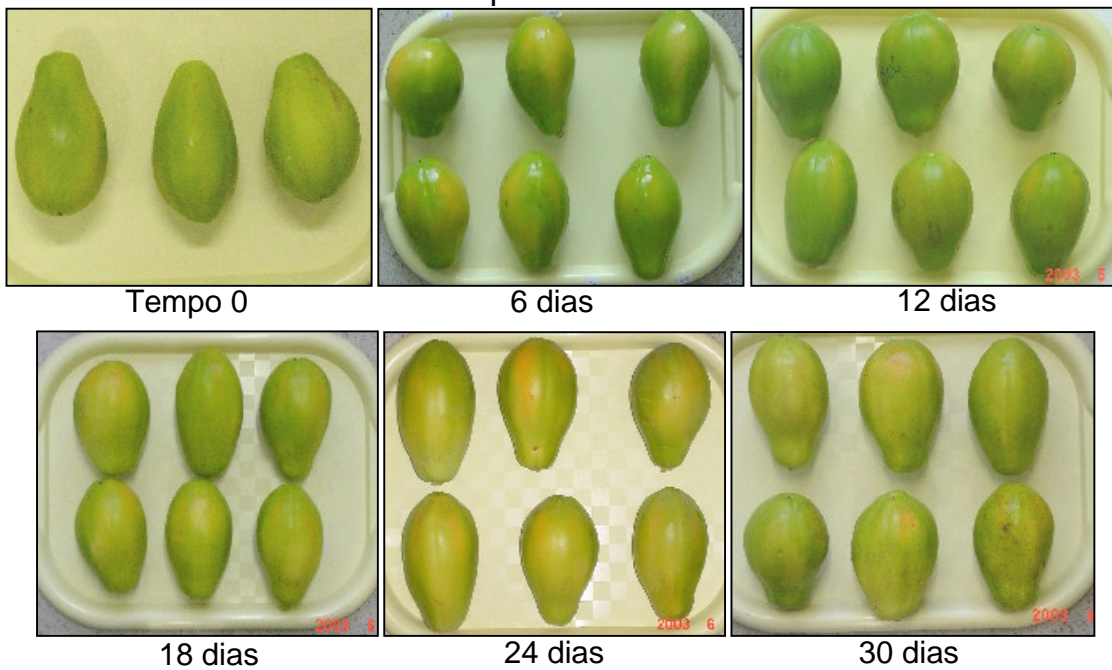


Figura 8 - Variação da coloração dos mamões nas regiões expostas e não expostas ao sol após sua estocagem à temperatura de 6 °C por 33 dias.



#### 4.2. Influência da temperatura sobre a atividade da enzima poligalacturonase (PG) nas regiões dos frutos não expostas ao sol

A influência da temperatura sobre a atividade da enzima PG foi também investigada neste trabalho. De acordo com os resultados obtidos na ANOVA, a temperatura influenciou a atividade desta enzima e, além disso, houve interação entre as diferentes temperaturas estudadas e o período de armazenamento, conforme mostrado no Quadro 2A do Apêndice. Na Tabela 4 e na Figura 8, encontram-se os resultados do teste de Tukey e o gráfico do período analisado, respectivamente.

Inicialmente, foi encontrada uma redução percentual de aproximadamente 704% da atividade da PG, nos seis primeiros dias de estocagem, para frutos armazenados a 6 °C e de aproximadamente 342% para frutos armazenados a 13 °C. Esta redução pode estar associada com o decréscimo da firmeza dos frutos, que ocorre também neste período (Almeida, 2003; Pinto, 2003). Segundo Silva (1995), frutos de mamoeiro embalados em filmes de polietileno de baixa densidade e armazenados à temperatura de 10 °C por um período de armazenamento de 21 dias perderam aproximadamente 45% da firmeza da polpa em 6 dias de armazenamento.

Tabela 4 – Médias para atividade da enzima poligalacturonase de frutos armazenados a 6 e 13 °C, durante o período de armazenamento (33 dias), para a região dos frutos não exposta ao sol

Temperatura de armazenamento	Período de Armazenamento (dias)					
	0	6	12	18	24	33
6°C	1,09833a	0,13667c	0,43167b	0,48667b	0,49833b	0,22333c
13°C	1,09833a	0,24833c	0,56000b	1,01667a	0,58667b	0,52167b

As médias seguidas de uma mesma letra numa mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

A atividade da PG aumentou, após o sexto dia de armazenamento até o período de dezoito dias, para os frutos que foram estocados a 13 °C. Já para os frutos estocados a 6 °C, este aumento foi observado a partir do décimo segundo dia e manteve-se constante até o vigésimo quarto dia. Este atraso observado na

atividade da enzima, em frutos armazenados a 6 °C em relação aos frutos armazenados a 13 °C, pode ser atribuído ao efeito da temperatura.

Estes resultados mostram que a magnitude e o tempo de aparecimento da atividade máxima da enzima dependem da temperatura de estocagem.

Ainda em relação aos resultados apresentados na Tabela 4, foi observado um aumento médio percentual de aproximadamente 317% na atividade da PG, no décimo oitavo dia, para os frutos armazenados a 13 °C. Para os frutos armazenados a 6 °C, o aumento médio percentual foi de aproximadamente 345%. Em torno do vigésimo quarto dia. Este aumento pode ser atribuído à intensa atividade metabólica dos frutos durante o seu amadurecimento. Segundo Almeida, (2003), neste período, ocorre um intenso consumo de ácidos orgânicos acompanhado por uma mudança na coloração de verde para amarela em frutos estocados a 13 °C.

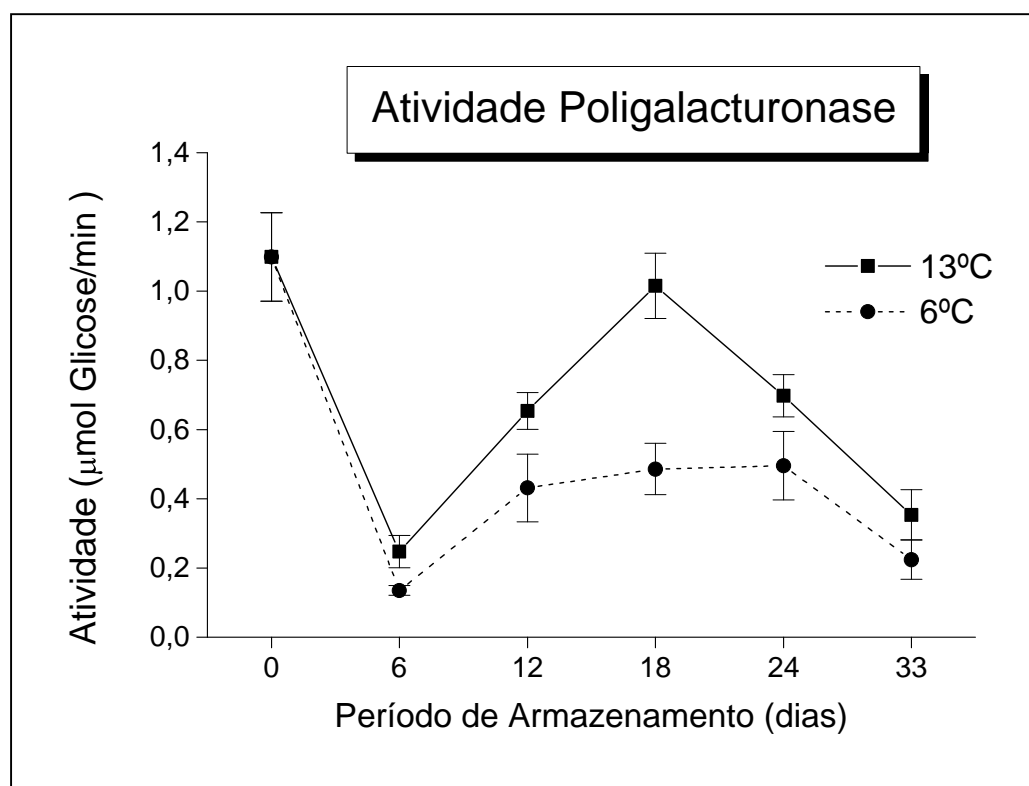


Figura 9 – Atividade da poligalacturonase da região não exposta ao sol de frutos armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por 33 dias.

Finalmente, para os frutos estocados a 13 °C, foi observado que a partir do décimo oitavo dia de armazenamento a atividade da PG decresceu e, então, permaneceu constante até o final do armazenamento. Este comportamento pode ser

atribuído ao início da senescência dos frutos. Já para os frutos estocados a 6 °C, o decréscimo na atividade da PG foi observado a partir do vigésimo quarto dia de armazenamento. Nesta fase, segundo Awad, 1993, ocorre uma forte desaceleração e até mesmo a inibição temporária do metabolismo dos frutos.

#### **4.3. Influência da temperatura de estocagem e da exposição das regiões exposta e não exposta ao sol dos frutos sobre a atividade da enzima fenilalanina amonialiase (PAL)**

As médias da atividade da enzima PAL, determinadas nas regiões expostas e não expostas ao sol dos mamões mantidos a temperaturas de 6 e 13 °C por 33 dias, estão mostradas na Tabela 5. O gráfico deste período é apresentado na Figura 9.

De acordo com os resultados encontrados, a atividade dessa enzima antes do armazenamento dos frutos a 6 e 13 °C (período zero) foi maior nas partes dos frutos que foram expostas ao sol.

Tabela 5 – Atividade enzimática da PAL da região dos frutos exposta (E) e da não exposta (NE) ao sol durante seu desenvolvimento, armazenados a 6 e 13 °C por um período de 33 dias

Temperatura e Exposição	Período de Armazenamento (dias)					
	0	6	12	18	24	33
6°C E	52,79a	34,52bc	28,20d	34,07c	35,85bc	38,53b
6°C NE	27,93b	33,67a	23,43c	29,47b	26,91ab	30,57ab
13°C E	52,79a	19,44c	21,57c	27,24b	27,88b	27,39b
13°C NE	27,93b	22,14c	23,22c	25,05bc	23,61c	36,87a

As médias seguidas de uma mesma letra numa mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

A PAL, para ambas temperaturas de estocagem, apresentou maior atividade no período inicial (tempo zero) na parte em que houve incidência do sol. Estes resultados estão de acordo com as afirmações de vários pesquisadores de que a luz de várias qualidades (branca, vermelha, azul) pode induzir a síntese da enzima PAL (Rivero et al., 2001; Leyva et al., 1995; Jones, 1984; Feinbaum e Ausubel, 1988; Ohl

et al., 1990). Portanto, estes resultados eram esperados devido à profunda influência da luz sobre o desenvolvimento das plantas (Jones, 1984).

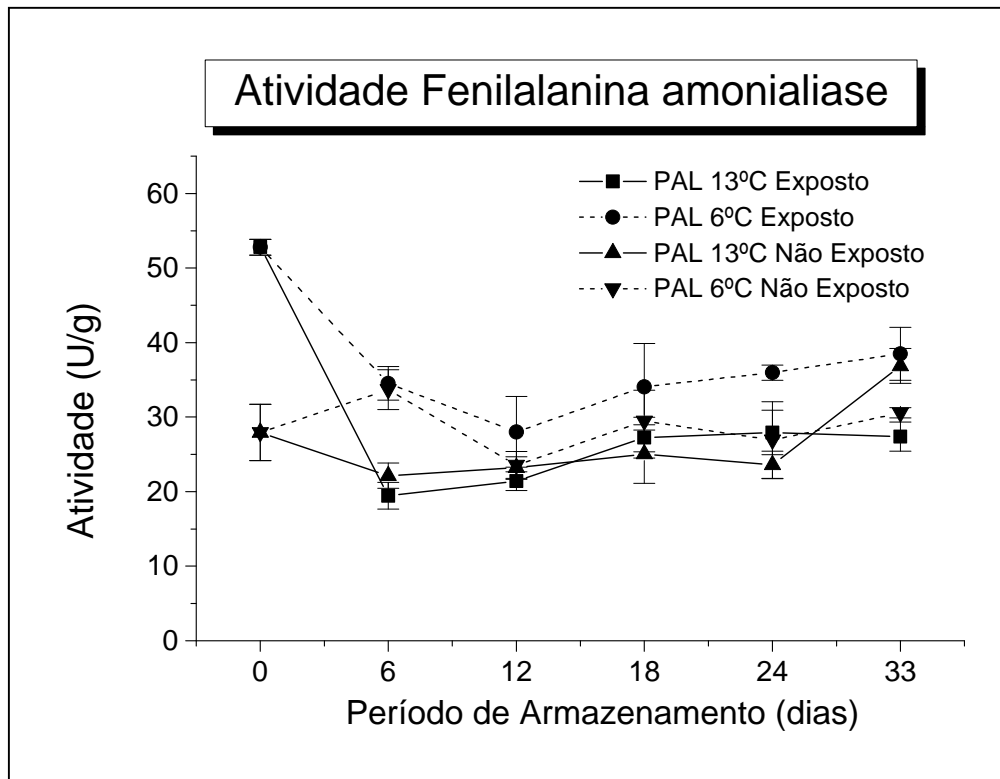


Figura 10 - Atividade da enzima PAL das regiões exposta e não exposta ao sol de frutos armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por 33 dias.

Os resultados apresentados na Tabela 5 revelam que, na temperatura de 13 °C, houve uma queda acentuada da atividade da PAL na região dos frutos exposta ao sol, até o sexto dia de armazenamento. No entanto, a atividade dessa enzima, nos frutos estocados a 6 °C, continuou a decrescer até o décimo segundo dia, apresentando, contudo, valores superiores aos apresentados pelos frutos estocados a 13 °C, durante este período em questão. Posteriormente, os frutos estocados a 6 °C apresentaram um aumento da atividade da PAL até o final do armazenamento. Este aumento na atividade da PAL pode estar relacionado à incidência da injúria pelo frio, que foi observada a partir deste período. De fato, esta afirmação pode ser confirmada pelos resultados apresentados anteriormente na Tabela 3, em que foi observado uma redução do parâmetro de Hunter "L" no referido período. Ressalta-se ainda que os frutos estocados a 13 °C apresentaram um

incremento da PAL apenas no décimo oitavo dia, permanecendo constante até o final do armazenamento.

Em relação à atividade da PAL na região dos frutos não exposta ao sol, não foi observado nenhum comportamento que evidencie a incidência da injúria pelo frio.

A atividade da PAL foi, portanto, maior na região exposta ao sol daqueles frutos que foram mantidos a 6 °C, durante o período de armazenamento (Figura 9). Estes resultados indicam que a PAL ensaiada nas amostras de mamão, além de sofrer influência da luz, foi também afetada pela temperatura de estocagem. Portanto, podemos concluir que temperaturas mais baixas têm um efeito adicional na enzima induzida pela luz. Resultados similares foram encontrados por Leyva et al. (1995) em folhas de *Arabidopsis thaliana*. Estes pesquisadores constataram que houve um acúmulo da enzima PAL, em resposta à luz, mais a 4 °C do que a 20 °C e que o nível de acumulação durante a exposição a baixas temperaturas foi maior em plantas crescidas sob a luz. Segundo Rösler et al. (1997), a PAL é considerada a principal enzima da biossíntese de compostos fenólicos e é afetada por um grande número de fatores, incluindo a luz, temperatura, reguladores de crescimento, inibidores de RNA e síntese de proteína, seca e nutrição mineral (Rivero et al., 2001).

#### **4.4. Influência da temperatura de estocagem e da exposição dos frutos ao sol sobre a atividade da enzima peroxidase (POD)**

As médias da atividade da POD obtidas para a região dos frutos exposta e para a não exposta ao sol, estocados a 6 e 13 °C por 33 dias, estão mostradas na Tabela 6. De acordo com a ANOVA, houve efeito significativo da temperatura, exposição ao sol, período de armazenamento e interação entre eles (Apêndice, Quadro 5A).

A atividade da POD aumentou para todos os tratamentos estudados (Figura 10) até o décimo segundo dia de armazenamento dos frutos, provavelmente em reposta à atividade respiratória dos frutos que ocorre neste período. Além disso, foi observado que, no período zero, a atividade da POD para a região dos frutos exposta ao sol foi maior que para a região dos frutos não exposta ao sol. Esta

diferença observada pode estar relacionada com a atividade da PAL, que também foi maior nesta região do fruto.

Tabela 6 – Atividade da enzima POD nas regiões exposta (E) e não exposta (NE) dos frutos ao sol, armazenados a 6 e 13 °C por um período de 33 dias

Temperatura e Exposição	Período de Armazenamento (dias)					
	0	6	12	18	24	33
6°C E	43,18e	55,19cd	61,28ab	63,15a	57,48bc	51,69d
6°C NE	23,41d	60,36bc	68,28b	80,43a	57,38c	53,67c
13°C E	43,18d	57,02c	64,69b	70,43b	68,12b	94,35a
13°C NE	23,41e	47,64d	60,55bc	63,69ab	69,95a	55,12cd

As médias seguidas de uma mesma letra numa mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

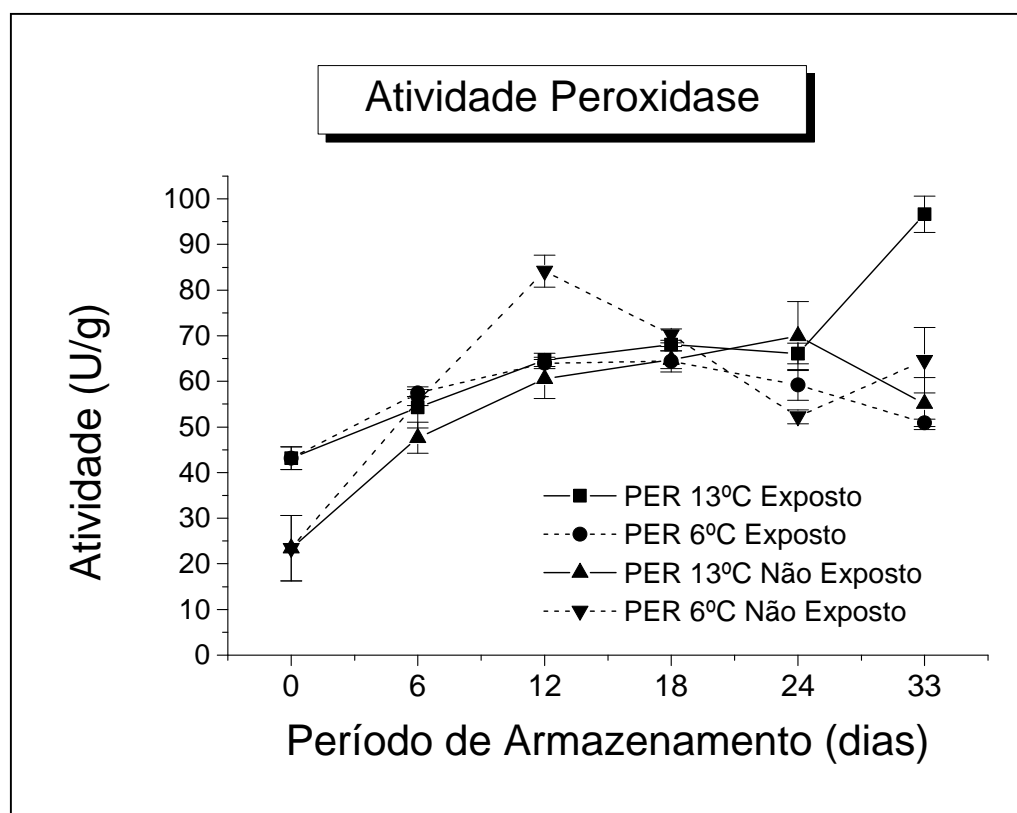


Figura 11 – Atividade da enzima POD das regiões exposta e não exposta ao sol dos frutos armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por 33 dias.

Após o décimo segundo dia de armazenamento, os frutos provenientes dos diversos tratamentos apresentaram comportamentos diferentes. Os mamões estocados a 13 °C, região exposta ao sol, apresentaram um aumento da atividade da POD até o final do seu armazenamento, sendo que, do décimo segundo dia ao vigésimo quarto, este aumento não sofreu alteração e, no trigésimo terceiro dia, voltou a subir. Os frutos da região não exposta ao sol também tiveram aumento de atividade da POD no décimo segundo dia de armazenamento sem sofrer alteração até o vigésimo quarto dia, porém, no trigésimo terceiro dia, houve uma redução na atividade da POD. Por outro lado, os mamões estocados a 6 °C apresentaram um pequeno decréscimo da atividade dessa enzima quando comparados com os frutos estocados a 13 °C, mostrando que a temperatura baixa retardou o processo de amadurecimento dos frutos.

#### **4.5. Influência da temperatura de armazenamento e da região de exposição dos frutos ao sol sobre a atividade da enzima polifenoloxidase (PPO)**

A ANOVA da atividade da PPO apresentada no Apêndice (Quadro 5A) revelou que houve efeito significativo entre os tratamentos de temperatura, região de exposição ao sol, período de armazenamento e a interação entre eles.

Tabela 7 – Atividade da enzima PPO na região do fruto exposta (E) e na não exposta (NE) ao sol, armazenados a 6 e 13° C por um período de 33 dias

	Período de Armazenamento (dias)					
	0	6	12	18	24	33
6°C E	28,59b	34,97a	34,82a	34,74a	34,82a	30,57b
6°C NE	27,52ab	36,53a	35,05a	35,84a	31,38ab	22,55b
13°C E	28,59d	36,28c	39,64bc	45,63a	43,60ab	39,83bc
13°C NE	27,52d	34,08c	38,50b	42,45b	42,75b	59,84a

As medias seguidas de uma mesma letra numa mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 7, no período zero, não houve diferença na atividade da PPO para todos os tratamentos estudados. Estes resultados contrastam com aqueles obtidos para a POD, em que a atividade desta enzima foi maior na região exposta ao sol.

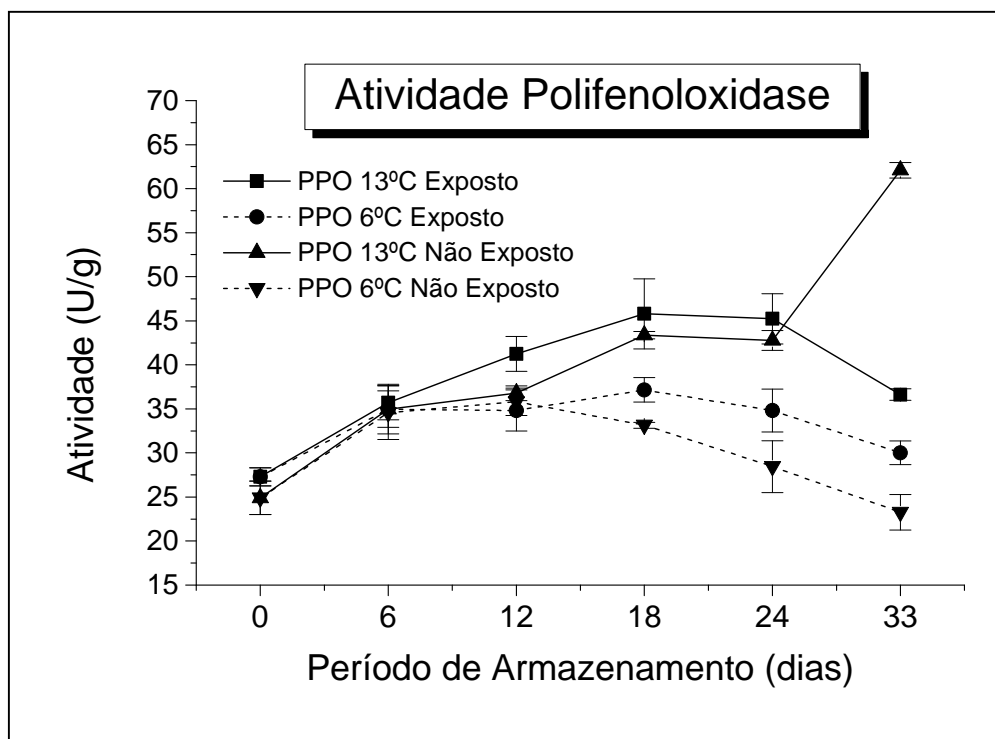


Figura 12 - Atividade da enzima PPO das regiões dos frutos exposta e não exposta ao sol, armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por 33 dias.

Em relação aos frutos estocados a 6 °C, foi observado que, a partir do vigésimo quarto dia de armazenamento, a atividade da PPO decresceu, sendo que na região dos frutos não exposta ao sol este decréscimo foi mais acentuado. A menor atividade dessa enzima encontrada na região dos frutos não exposta ao sol, durante o referido período, pode estar relacionada com a menor atividade da PAL também observada próxima a este período, pois a menor atividade da PAL disponibiliza menos substrato para a atuação da PPO (Martinez e Whitaker, 1995). Entretanto, para os frutos armazenados a 13 °C, região não exposta ao sol, houve um aumento na atividade da PPO que permaneceu constante até o vigésimo quarto dia. Na região dos frutos exposta ao sol, este aumento só ocorreu a partir do décimo oitavo dia e permaneceu constante até o final do armazenamento. Este



comportamento encontrado para a PPO contrasta com aquele observado para a PAL (Tabela 5). Possivelmente, a temperatura pode ter influenciado a atividade da PPO. Rivero et al. (2001) encontraram que, embora a atividade da PAL e da concentração de compostos fenólicos solúveis em plantas de tomate e melancia terem sido altas, a atividade da PPO e da POD foram inibidas.

Finalmente a atividade da PPO voltou a aumentar entre o vigésimo quarto e o trigésimo terceiro dias, na região não exposta dos frutos estocados a 13 °C, coincidindo com o aumento da atividade da PAL também ocorrida nestas mesmas condições. Este resultado reforça a hipótese de que existe uma ação conjunta entre as enzimas PAL, POD e PPO, funcionando a PAL como produtora de substratos fenólicos para a atuação da POD e PPO.

#### **4.6. Influência da temperatura de estocagem sobre a respiração e a perda de massa**

Os resultados da análise de CO<sub>2</sub> contido nas embalagens de PEBD em função da temperatura, ao longo do período de armazenamento, estão indicados na Tabela 8 e no gráfico da Figura 12. A análise estatística do resultado das medidas de CO<sub>2</sub> mostraram que existe efeito significativo dos tratamentos de tempo de armazenamento e temperatura. Além disso, foi observado que houve também interação entre os dois tratamentos (Apêndice - Quadro 4A).

Tabela 8 – Médias de CO<sub>2</sub> (% em volume) de frutos armazenados a 6 e 13 °C durante o período de armazenamento (30dias)

Temperatura de armazenamento	Período de Armazenamento (dias)				
	6	12	18	24	30
6°C	1,3867b	1,5483b	1,5083b	1,7317ab	2,2850a
13°C	2,3586a	2,5100a	2,5533a	2,5417a	2,6867a

As médias seguidas de uma mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

A concentração de CO<sub>2</sub> nas embalagens dos frutos armazenados na temperatura de 13 °C foi maior do que a dos embalados e estocados à temperatura de 6 °C, após o período de seis dias. Esta diferença de conteúdo de CO<sub>2</sub> pode ser

atribuída a um processo de respiração mais intenso que ocorre em frutos armazenados em temperaturas mais elevadas (Chitarra e Chitarra, 1990).

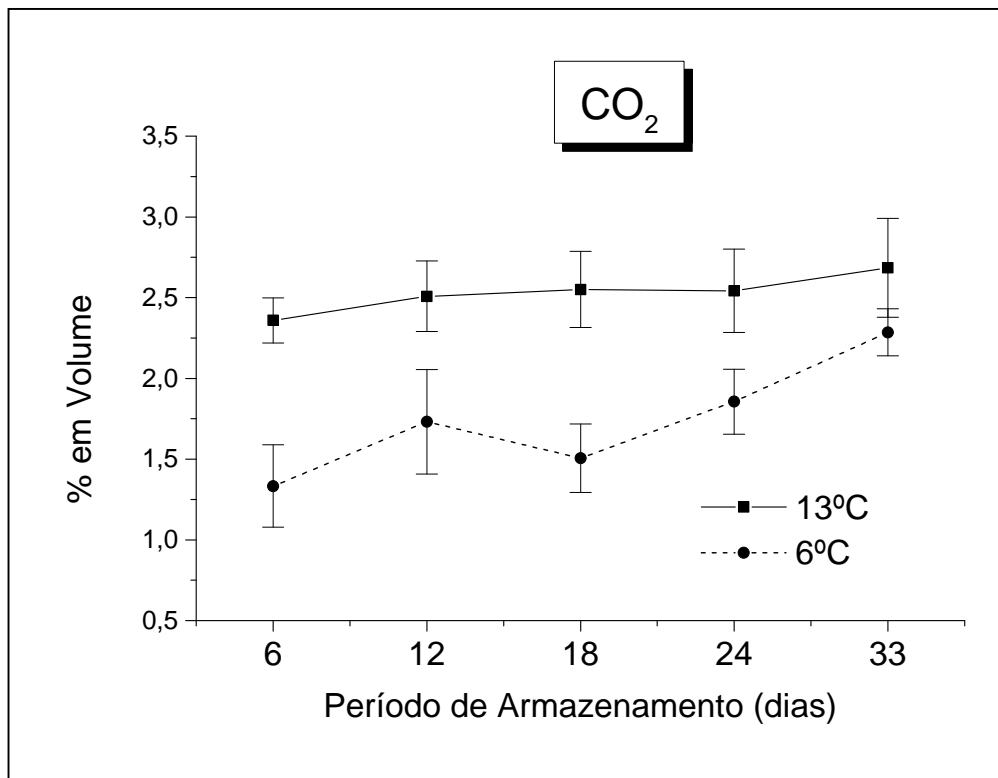


Figura 13 – Evolução da concentração de CO<sub>2</sub> de frutos embalados em polietileno de baixa densidade (PEBD ) e armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por 30 dias.

Destaca-se ainda, na Tabela 8, que os frutos estocados a 13 °C não apresentaram variação nas medidas de CO<sub>2</sub> ao longo do período de armazenamento, mostrando que a atmosfera possivelmente ficou saturada, a partir do sexto dia de armazenamento, devido a um equilíbrio entre o CO<sub>2</sub> liberado na respiração e a permeabilidade do gás pelo filme de PEBD. Na temperatura de 6 °C, observou-se um aumento no conteúdo de CO<sub>2</sub> a partir do vigésimo quarto dia de armazenamento, provavelmente devido a menores taxas respiratórias que ocorrem em baixas temperaturas de armazenamento (Awad, 1993).

As medidas de perda de massa dos frutos embalados em PEBD e estocados nas temperaturas de 6 e 13 °C estão mostrados na Tabela 9 e no gráfico da Figura 13. Além disso, a ANOVA dos tratamentos é mostrada no Apêndice – Quadro 3A. De

acordo com esta análise, houve efeito significativo dos tratamentos de temperatura, tempo e a interação entre eles.

Tabela 9 – Médias de perda de massa (em %) de frutos armazenados a 6 e 13 °C durante o período de armazenamento (33 dias)

Temperatura de armazenamento	Período de Armazenamento (dias)					
	0	6	12	18	24	33
6°C	0,000c	0,8983b	1,1583b	2,4167a	2,4867a	2,5083a
13°C	0,000d	1,5883c	2,2383bc	3,5517a	1,7933bc	2,3917b

As médias seguidas de uma mesma letra numa mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

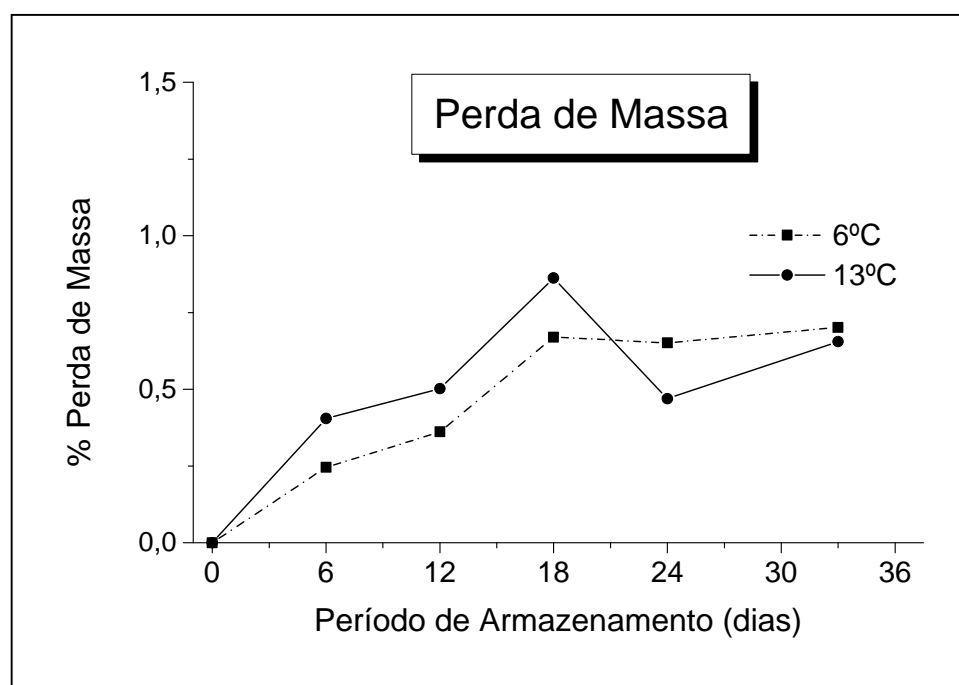


Figura 14 – Porcentagem de perda de massa de frutos armazenados a temperaturas de 6 e 13 °C por 33 dias.

Os frutos estocados na temperatura de 13 °C apresentaram um aumento progressivo da perda de massa até o décimo oitavo dia (Tabela 9). O mesmo incremento foi observado nos frutos estocados na temperatura de 6 °C, sendo que estas medidas foram menores do que aquelas realizadas a 13 °C devido a maior atividade metabólica dos frutos armazenados em maiores temperaturas. Após o

décimo oitavo dia, ocorreu uma redução da perda de massa dos frutos estocados a 13 °C, provavelmente devido à saturação do ambiente interno das embalagens com a água que foi liberada pela respiração dos frutos. Além disso, foi verificado que, na temperatura de 6 °C, a perda de massa permaneceu constante até o final do armazenamento, sugerindo também uma condição de saturação no interior das embalagens.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

Os parâmetros de Hunter 'a', 'b' e 'L', utilizados para avaliar o desenvolvimento da coloração, foram significativamente diferentes ao longo do período de armazenamento e sofreram a influência tanto da temperatura quanto da região de exposição dos frutos ao sol. Os frutos armazenados a 13 °C apresentaram uma perda da coloração verde da casca, mostrando que houve uma evolução da maturação destes frutos. Pelo fato de estes frutos apresentarem valores positivos do parâmetro de Hunter 'a', no final do armazenamento, tanto para a região exposta quanto para a região não exposta ao sol, pode-se sugerir que a temperatura tenha influenciado mais que a exposição ao sol na perda da coloração verde. As partes dos frutos não expostas ao sol apresentaram diferença significativa deste parâmetro a partir do décimo oitavo dia de armazenamento sugerindo a influência da luz solar sobre a coloração dos mesmos. Em relação ao parâmetro de Hunter 'b', nos frutos estocados a 13 °C, foi observado que eles tiveram uma maior evolução na coloração amarela e maturação que os frutos estocados a 6 °C; e que a exposição dos mamões à luz solar induziu o desenvolvimento da coloração amarela nestas partes mais rapidamente em relação às partes que não foram expostas. Pelas análises do parâmetro de Hunter 'L', podemos verificar que a exposição de determinada região dos frutos ao sol contribuiu para o aparecimento da incidência da injúria pelo frio, principalmente na região exposta ao sol de frutos estocados à temperatura de 6 °C.

Os frutos armazenados a 13 °C apresentaram valores significativamente maiores para a perda de massa, taxa de respiração e para a atividade da PG em

relação aos frutos armazenados a 6 °C. Estes resultados indicam que a magnitude e o tempo de aparecimento dos valores máximos destes parâmetros dependem da temperatura de estocagem.

A atividade da enzima PAL foi maior nos frutos armazenados a 6 °C na região exposta ao sol. Este resultado, juntamente com o resultado da análise do parâmetro de Hunter 'L', nas mesmas condições, sugere uma relação entre o escurecimento dos frutos e a maior atividade da PAL em frutos que sofrem a injúria pelo frio.

Os mamões estocados a 13 °C apresentaram um aumento da atividade da POD até o final do seu armazenamento, principalmente na região exposta ao sol. Por outro lado, os mamões estocados a 6 °C apresentaram um pequeno decréscimo da atividade desta enzima comparada aos frutos estocados a 13 °C, mostrando que a temperatura baixa retardou o processo de amadurecimento dos frutos.

A baixa temperatura pode ter influenciado a atividade da PPO. Em frutos estocados a 6 °C, a partir do décimo segundo dia de armazenamento, a atividade da PPO decresceu, sendo que, na região dos frutos não exposta ao sol, este decréscimo foi mais acentuado.

A atividade da PPO aumentou a partir do vigésimo quarto dia de armazenamento na região não exposta dos frutos estocados a 13 °C, coincidindo com o aumento da atividade da PAL também ocorrida nestas mesmas condições.

As enzimas PAL, POD e PPO, relacionadas ao escurecimento, tiveram suas atividades aumentadas em função da incidência da injúria pelo frio, 'chilling', devido à baixa temperatura de armazenamento.

A injúria pelo frio foi mais acentuada nas regiões dos frutos expostas ao sol durante seu desenvolvimento no campo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abeles, F.B., Morgan, P.W., Saltveit Jr, M.E. (1992) Fruit ripening abscission and post harvest disorders. In: Abeles, F.B., Morgan, P.W., Saltveit Jr, M.E. *Ethylene in plant biology*, 2 (6):182-221.
- Agriannual (2001) Agriannual 00 - Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio Rd. Argos. 345p.
- Almeida, F.T., Bernardo, S., Sousa, E.F., Marin, S.L.D., Grippa, S. (2003) Growth and yield of papaya under irrigation. *Scientia Agrícola*, 60 (3):419-424.
- Almeida, R.F. (2003) *Avaliação do efeito do distúrbio fisiológico pelo frio "Chilling" sobre as propriedades físicas e químicas dos frutos de mamoeiro (Carica papaya L.)*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 59p.
- Amorim, H.V. (1985) Respiração. In: Ferri, M. G., (coord.) *Fisiologia Vegetal* 1. 2. ed. São Paulo, p. 272/278-279.
- Anderson, M.D., Prasad, T.K., Martin, B.A., Stewart, R. (1994) Differential gene expression in chilling-acclimated maize seedlings and evidence for the involvement of abscisic acid in chilling tolerance. *Plant Physiology*, 105 (1):331-339.

- Awad, M. (1993) *Fisiologia pós-colheita de frutos*. São Paulo: Ed. Nobel, 114p.
- 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*, 28 (6):733-742.
- Brasil (1994) Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária – SDR – FRUPEX. *Mamão para exportação: Aspectos Técnicos da Produção*. EMBRAPA, Brasília 1994. 52p.
- 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*, 115:717-725.
- Cantos, E., Tudela, J.A., Gil, M.I., Espín, J.C. (2002) Phenolic Compounds and Related Enzymes Are Not Rate-Limiting in Browning Development of Fresh-Cut Potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (10):3015 –3023.
- Carpita, N.C., Gibeaut, D.M. (1993) Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal: For Cell And Molecular Biology*, 3 (1):1-30.
- Chan Jr, H.T., Hibbard, K.L., Goo, T. (1979) Sugar composition of papayas during fruit development. *HortScience*, 14:140-141.
- Chan, Jr, H.T., Tam, S.Y.T., Seo, S.T. (1981) Papaya polygalacturonase and its role in thermally injured ripening fruit. *Journal of Food Science*, 46:190-197.
- Chitarra, M.I.F. (1994) Colheita e qualidade pós-colheita de frutos. *Informe Agropecuário*, 17 (179)8-18.
- Chitarra, M.I.F., Chitarra, A.B. (1990) *Pós-colheita de frutas e hortaliças. Fisiologia e manuseio*. Lavras: ESAL/FAEPE, 320p.



- Cohen, E., Laurie, S., Yavin, S. (1988) Prevention of red blotch in degreened lemon fruit. *HortScience*, 23:864-866.
- Cook, N.C., Samman, S. (1996) Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 7 (2):66-76.
- D’Innocenzo, M. (1996) *Comportamento de enzimas da parede celular e textura da polpa relacionados ao tratamento de irradiação de mamões (Carica papaya L. cv Solo) durante o amadurecimento*. Tese (Mestrado em Ciências) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALq, 85p.
- Dias, L.H.P.V. (2003) *Aplicação de técnicas fototérmicas ao estudo de propriedades físicas de polímeros biodegradáveis*. Tese (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 102p.
- Dunford, H.B., Stillman, J.S. (1976) On the function and mechanism of action of peroxidases. *Coord. Chem. Rev.* 19:187-251.
- Fagundes, G.R., Yamanishi, O.K. (2000) Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo ‘solo’ comercializados em 4 estabelecimentos de Brasília-DF. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23 (3):541-545.
- Feinbaum, R.L., Ausubel, F.M. (1988) Transcriptional regulation of the *Arabidopsis thaliana* chalcone syntase gene. *Molecular Cell Biology*, 8:1985-1992.
- Food and Agriculture organization of the United Nations – FAO (2003) Produção de papayas en Mundo (mayor). Base de datos Estadísticos. Agricultura. Datos agrícolas de FAOSTAT. Producción de Cultivos Primarios; <http://apps.fao.org/page/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&language=ES&hostname=apps.fao.org&version=default> em 16/10/03 página mantida pela FAO.
- Grace, S.C., Logan, B.A., Adams III, W.W. (1998) Seasonal differences in foliar content of chlorogenic acid, a phenylpropanoid antioxidant, in *Mahonia repens*. *Plant Cell and Environment*. 21:513–521.

- Hahlbrock, K., Scheel, D. (1989) Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40:347-369.
- Hobson, G.E. (1981) *Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables*. Academic Press, Londres, p. 121-132. (2)
- Huber, D.J. (1983) Polyuronide degradation and hemicellulose modifications in ripening tomato fruit. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 108:405-409.
- Jones, H.D. (1984) Phenylalanine ammonia lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. *Phytochemistry*, 23:1349-1355.
- Kader, A.A. (1987) Respiration and gas exchange of vegetables. In: Weichmann, J., (org.) *Postharvest physiology of vegetables*. New York: CRC Press, p.25-43.
- Ke, D., Salveit, E. (1988) Plant hormone interaction and phenolic metabolism in the regulation of russet spotting in iceberg lettuce. *Plant Physiology*, 88:1136–1140.
- Kwak, S.S., Kim, S.K., Park, I.J., Lui, J.R. (1996) Enhancement of peroxidase activity by stress related chemicals in sweet potato. *Phytochemistry*, 43:565–568.
- Lacoeuilhe, J.J. (1982) Cuidados com o fruto após a colheita. *Anais do Simpósio Brasileiro sobre abacaxicultura*, 1, Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal – UNESP, p. 217-234.
- Lafuente, M.T., Martínez-Téllez, M.A. (1997) Effect of the high temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of chilled (Fortune) mandarin fruit. *Journal of Plant Physiology*, 150:674–678.
- Levine, A., Tenhaken, R., Dixon, R., Lamb, C. (1994) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, 79:583-593.
- Leyva, A., Jarrillo, J.A., Salinas, J., Martínez-Zapater, M. (1995) Low temperature induces the accumulation of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase

- mRNA of *Arabidopsis thaliana* in light-dependent manner. *Plant Physiology*, 108:39–46.
- López-Serrano, M., Ros-Barceló, A. (1995) Peroxidase in unripe and processing-ripe strawberries. *Food Chemistry*, 52:157-160.
- Lyons, J.M. (1973) Chilling injury in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 24:445–466.
- Marriott, J., Proctor, E.J. (1979) Tropical fruit: transportation & storage. *World Farm*, 21:14-29.
- Martinez, M.V., Whitaker, J.R. (1995) The biochemistry and control of enzymatic browning. Review. *Trends In Food Science & Technology*, 6:195-200.
- Matsuno, H., Uritani, I. (1972) Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting of with black root. *Plant and Cell Physiology*, 13:1091-1101.
- Mendes, M., Timossi, J., Harada, E. (2002) Frutas: rentabilidade e desempenho recente. *Agrianual 2002: anuário da agricultura brasileira*. São Paulo: FNP, p. 22-26.
- Nozolillo, C., Isabelle, P., Das, G. (1990) Seasonal changes in phenolics constituents of jack pine seedlings (*Pinus banksiana*) in relation to the purpling phenomenon. *Canadian Journal of Botany*, 68:2010–2017.
- Ohl, S., Hedrick, S., Chory, J., Lamb, C. (1990) Functional properties of a phenylalanine ammonia-lyase promoter from *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2:837-848.
- Oliveira, M.A.B. (2002) *Caracterização da cor do estágio de maturação e influência do 1-MCP na pós-colheita do mamão (Carica papaya L.)*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte fluminense – UENF, 117p.
- Pathak, N., Mishra, S., Sanwal, G.G. (2000) Purification and characterization of polygalacturonase from banana fruit. *Phytochemistry*, 54:147-152.
- Paull, R.E., Gross, K., Qiu, Y. (1999) Changes in papaya cell walls during fruit ripening. *Postharvest Biology an Technology*, 16:79-89.

- Pereira, T. (2003) *Avaliação das características físicas e químicas de goiabas (psidium guajava l.) cv. cortibel, de polpa branca, sob diferentes condições de armazenamento*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 93p.
- Pinto, L.K.A. (2003) *Influência de diferentes filmes plásticos sobre a conservação de frutos de mamoeiro (Carica papaya L.), mantidos sob refrigeração*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 57p.
- Prasad, T.K., Anderson, M.D., Martin, B.A., Stewart, C.R. (1994a) Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell*, 6 (1):65-74.
- Prasad, T.K., Anderson, M.D., Stewart, C.R. (1994b) acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in Maize seedlings. *Plant Physiology*, 105 (2):619-627.
- Rivero, R.M., Ruiz, J.M., García, P.C., López-Lefebvre, L.R., Sánchez, E., Romero, L. (2001) Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science*, 160:315-321.
- Rösler, J., Krefel, F., Amrhein, N., Schmid, I. (1997) Maize phenylalanine ammonia-lyase activity. *Plant Physiology*, 113:175-179.
- Ruiz, J.M., Bretones, G., Baghour, M., Ragala, L., Belakbir, A., Romero, L. (1998) Relationship between boron and phenolic metabolism in tobacco leaves. *Phytochemistry*, 48:269–272.
- Ruiz, J.M., García, P.C., Rivero, R.M., Romero, L. (1999) Response of phenolic metabolism to the application to the carbendazim plus boron in tobacco leaves. *Physiologia Plantarum*, 106:151–157.
- Saltveit, M.E. (1997) Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. In: Tomás-Barberán, F.A., Robin, R.D. (eds.) *Phytochemistry of Fruits and Vegetables*. Oxford: Oxford University Press, p 205-220.

- Setha, S., Kanlayanarat, S., Srilaong, V. (2000) Changes in polyamine levels and peroxidase activity in 'Khakdum' Papaya (*Carica papaya* L.) under low temperature storage conditions. *In: In: Johnson, G.I., To, L. V., Duc, N. D. (eds.) Quality assurance in agricultural produce.* Webb. Webb. ACIAR Proceedings 100. p. 593-598.
- Silva, E.O. (1995) *Efeito da embalagem plástica e da temperatura sobre a qualidade pós-colheita do mamão.* Tese (Mestrado em Fitotecnia) – Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 65p.
- Simão, S. (1998) *Tratado de Fruticultura.* Piracicaba: FEALQ. p. 541-575.
- Smith-Becker, J., Marois, E., Huguet, E.J., Midlands, S.L., Sims, J.J., Keen, N.T. (1998) Accumulation of salicylic acid and 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic acquired resistance in preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in petioles and stem. *Plant Physiology*, 116:231–238.
- Subramanian, N., Venkatesh, P., Ganguli, S., Sinkar, V.P. (1999) Role of polyphenol oxidase and peroxidase in the generation of black tea theaflavins. *J. Agric. Food Chemistry*, 47:2571-2578.
- Taiz, L., Zeiger, E. (1998) *Plant Physiology.* Sinauer Associates, Inc. Sunderland: Publishers, 792p.
- Tatagiba, J.S., Liberato, J.R., Zambolim, L., Ventura, J.A., Costa, H. (2002) Controle e doenças climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 27 (2):186-192.
- Teisson, C. (1979) Le brunissement interne de l'ananas. I – Historique. II – Matériel et méthodes. *Fruits*, 34 (4):245-261.
- Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C. (2001) Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of Science and Food Agriculture*, 81:853-876.
- Van Buren, J. (1970) Fruit phenolics. *In: Hulme, A.C. (ed.) The biochemistry of fruits and their products.* London: Academic Press, p. 269-304.

- Van Lelyveld, L.J., De Bruyn, J.A. (1977) Polyphenoles, ascorbic acid and related enzyme activities associated with black-heart in Cayenne pineapple fruit. *Agrochemophysica*, South Africa, 9 (1):1-6.
- Wang, C.Y. (1982) Physiological and biochemical response of plant to chilling stress. *Hortscience*, 17:173-186.
- Zhou, Y., Dahler, J.M., Underhill, S.J.R., Wills, R.B.H. (2003) Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. *Food Chemistry*, 80:565-572.

## **APÊNDICE**

Quadro 1A - Resumo da análise de variância (ANOVA) para avaliação dos parâmetros *L*, *a* e *b* da coloração da casca nas regiões dos frutos exposta e não exposta ao sol, armazenados por 33 dias a temperaturas de 6 e 13 °C

FV	GL	Quadrado Médio		
		L	A	B
Temperatura	1	372,88*	56,55*	59,12*
Exposição	1	3424,59*	8,38*	808,22*
Período	5	86,75*	112,25*	50,92*
Temp. x exposição	1	0,03 <sup>ns</sup>	21,93*	0,34 <sup>ns</sup>
Exp. x Período	5	24,46*	11,92*	13,50*
Temp. x POD	5	89,17*	52,98*	23,22*
Temp. x Exp x POD	5	23,24*	3,42*	4,32*
Erro	120	2,32	1,31	0,82
CV (%)		2,75	39,50	3,39
Média		55,33	-2,90	26,68

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

ns – Não significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F.

Quadro 2A - Resumo da análise de variância (ANOVA) para atividade da enzima poligalacturonase (PG) na região não exposta de frutos, armazenados por 33 dias nas temperaturas de 6 e 13 °C

FV	GL	Quadrado Médio
		PG
Temperatura	1	0,6689389*
Período	5	1,1993356*
Temp. X Per.	5	0,11019889*
Erro	60	0,00976278*
CV (%)		17,17
Média		0,5755556

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

ns – Não significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F.



Quadro 3A - Resumo da análise de variância (ANOVA) para perda de massa de frutos, armazenados por 33 dias a temperaturas de 6 e 13 °C

FV	Quadrado Médio	
	GL	% perda de massa
Temperatura	1	2,1945*
Período	5	13,1535*
Temp. x Per.	5	1,6317*
Erro	60	0,1414
CV (%)		21,4564
Média		1,7526

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

ns – Não significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F.

Quadro 4A - Resumo da análise de variância (ANOVA) para produção de CO<sub>2</sub> de frutos armazenados por 30 dias a temperaturas de 6 e 13 °C

FV	Quadrado Médio	
	GL	CO <sub>2</sub>
Temperatura	1	9,31*
Período	4	0,66*
Temp. x Per.	4	0,21*
Erro	50	0,056
CV (%)		11,11
Média		2,136

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

ns – Não significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F.

Quadro 5A - Resumo da análise de variância (ANOVA) para avaliação das atividades das enzimas peroxidase (POD), polifenoloxidase (PPO) e fenilalanina amonialiase (PAL) nas regiões dos frutos exposta e não exposta ao sol, armazenados por 33 dias a temperaturas de 6 e 13 °C

FV	GL	Quadrado Médio		
		POD	PPO	PAL
Temperatura	1	226,8287*	2369,7424*	924,6667*
Exposição	1	759,5077*	8,4584*	1206,1729*
Período	5	819,5488*	583,2625*	776,1584*
Temp x Exposição	1	1500,723*	257,3885*	297,2751*
Exp. X Período	5	696,1863*	149,6124*	571,1679*
Temp. x Período	5	730,0052*	450,2172*	124,7044*
Temp. x Exp x Per	5	942,7341*	274,0844*	56,2716*
Erro	120	5,3352	1,9200	4,5872
CV (%)		3,93	3,89	7,03
Média		58,707	35,6588	30,4611

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

ns – Não significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.