

APARÊNCIA, COMPOSTOS FENÓLICOS E ENZIMAS OXIDATIVAS EM UVA 'ITÁLIA' SOB INFLUÊNCIA DO CÁLCIO E DO ARMAZENAMENTO REFRIGERADO¹

MARIA AUXILIADORA COELHO DE LIMA², RICARDO ELESBÃO ALVES³,
JOSTON SIMÃO DE ASSIS², HELOÍSA A. CUNHA FILGUEIRAS³, JOSÉ TARCISO A. COSTA⁴

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito da aplicação pré-colheita de cálcio na aparência (secamento do engaço, danos mecânicos e podridões), teor de fenólicos e enzimas oxidativas (polifenoloxidase e peroxidase) em uva. Os cachos de uva 'Itália' de um cultivo comercial em Petrolina, Pernambuco, Brasil, foram marcados e imersos por 10 segundos, em soluções de Ca a 0 e 1,5%, na forma de cloreto de cálcio, aos 57 dias após o início da formação dos frutos (quando as bagas começaram a mudar de cor e amolecer). Após a colheita, os frutos foram armazenados a $3,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ e $93 \pm 6\%$ UR e avaliados aos 0; 14; 28; 42; 56 e 70 dias. Houve um incremento no secamento do engaço, no aparecimento de sintomas de danos mecânicos e de podridões nas bagas com o tempo de armazenamento. A aplicação de cálcio reduziu a atividade de polifenoloxidase e, conseqüentemente, os sintomas de danos mecânicos, resultando numa melhor aparência. A vida útil das uvas foi de aproximadamente 56 dias, quando sintomas de senescência, podridões e o nível dos sintomas de danos mecânicos começaram a aumentar de forma significativa.

Termos para indexação: conservação pós-colheita, qualidade, uva de mesa.

APPEARANCE, PHENOLIC COMPOUNDS AND OXIDATIVE ENZYMES OF 'ITALIA' GRAPES UNDER CALCIUM INFLUENCE AND REFRIGERATED STORAGE

ABSTRACT. The objective of this study was to determine the effects of pre-harvest calcium sprays on appearance (rachis drying, mechanical injuries and rotting symptoms), phenolic compounds and oxidative enzymes (polyphenoloxidase and peroxidase) in grapes. 'Italia' grapes from a commercial orchard from Petrolina, Pernambuco, Brazil, were labelled and immersed during 10 seconds in 0 and 1,5% of calcium solution as calcium chloride 57 days after fruit set (when the berries began to change color and soften). After harvest, fruits were stored at $3,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ and $93 \pm 6\%$ RH and evaluated after 0, 14, 28, 42, 56 and 70 days. Increments in rachis drying, symptoms of mechanical injuries and rotting on berries were observed during storage. Application of calcium reduced polyphenoloxidase activity and consequently symptoms of mechanical injury, resulting in better appearance. Storage life of grapes was of approximately 56 days, when senescence signs as well as rotting and increase of mechanical injuries in the berries began to be apparent.

Index terms: postharvest conservation, quality, table grapes.

INTRODUÇÃO

Em se tratando de um fruto perecível, a uva está suscetível à ocorrência de danos de diversas origens. Além daqueles decorrentes do manuseio inadequado, uma injúria conhecida como abrasão pode ocorrer durante as operações de embalagem e transporte. Geralmente, segundo Salunkhe e Desai (1984), ocorre em bagas friccionadas ou pressionadas contra a embalagem, sendo a cultivar Itália especialmente sensível.

Os principais problemas de conservação pós-colheita da uva 'Itália' são a ocorrência de danos mecânicos, o escurecimento das bagas e o secamento do engaço. Segundo Carvalho (1994), os danos mecânicos devem-se ao manuseio inadequado durante a colheita, a embalagem e o transporte, enquanto o escurecimento das bagas e o secamento do engaço são desordens de natureza fisiológica.

O escurecimento das bagas pode ter origem enzimática,

envolvendo a atuação das enzimas polifenoloxidase (PPO-E.C. 1.14.18.1) e peroxidase (POD-E.C. 1.11.17) (Wissemann e Lee, 1980). Pode ocorrer quando a PPO e os compostos fenólicos entram em contato, em conseqüência de danos sofridos pelas bagas durante a colheita ou na produção de vinho. A quebra da integridade física acelera a oxigenação dos tecidos e coloca as PPOs, os fenóis e as proteínas em contato direto, acelerando as reações químicas e a formação de melaninas.

A oxidação de fenóis pode resultar também da atividade da POD, que está relacionada, por exemplo, a alterações na cor e ao desenvolvimento de aromas estranhos durante o armazenamento (Hernández et al., 1996). Assim, uma alta taxa de atividade enzimática implica maior potencial de deterioração das características sensoriais da fruta, reduzindo sua vida útil.

Tratamentos pré ou pós-colheita com cálcio têm sido utilizados em frutos e hortaliças, visando a prolongar o período de conservação. Tal efeito pode ser obtido uma vez que o cálcio

¹ (Trabalho 011/2001). Recebido: 09/01/2001. Aceito para publicação: 22/01/2002. Extraído da dissertação de mestrado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal do Ceará (UFC).

² Embrapa Semi-árido, CP 23, CEP 56.300-970, Petrolina, PE. maclima@cpatsa.embrapa.br, joston@cpatsa.embrapa.br. 87 3862-1711.

³ Embrapa Agroindústria Tropical, CP 3761, 60.511-110, Fortaleza, CE. elesbao@cpnat.embrapa.br, heloisa@cpnat.embrapa.br. 85 299-1847.

⁴ UFC, CP 6012, CEP 60.541-970, Fortaleza, CE. fitotec@ufc.br. 85 288 9670.

altera processos intra e extracelulares envolvidos no amadurecimento e na senescência, como taxas de respiração e de produção de etileno; alterações na cor, no teor de açúcares e de ácidos orgânicos totais; amolecimento da polpa de frutos e atividade de algumas enzimas (Siddiqui e Bangerth, 1995).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação pré-colheita de cálcio na aparência, no teor de fenóis e na atividade de enzimas oxidativas da uva 'Itália', durante o armazenamento refrigerado.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em Petrolina, Pernambuco, Brasil, cujo clima é do tipo semi-árido quente BSh'W, conforme classificação de Köppen (Amorim Neto, 1989). O parreiral da cultivar Itália, sobre o porta-enxerto IAC 313, estava no quinto ano de produção e era conduzido em sistema de latada, num espaçamento de 3,0 m x 2,5 m, sob irrigação por gotejamento, em Latossolo Amarelo Distrófico, textura areno-argilosa.

Os tratamentos consistiram da aplicação de cálcio, nas doses 0 e 1,5%, e do armazenamento por 0; 14; 28; 42; 56 e 70 dias, a $3,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ e $93 \pm 6\%$ U.R. O cálcio foi aplicado, através de soluções de CaCl_2 , imergindo os cachos marcados de cada uma das três plantas que compunham cada parcela, na fase de mudança de cor e início de amolecimento das bagas (57 dias após a formação dos frutos), durante 10 segundos. À solução, adicionou-se o espalhante adesivo alquil-polifenol-glicoléter (0,3 mL/L).

Os cachos foram colhidos aos 35 após a aplicação de cálcio, quando atingiram o ponto de maturação comercial para a cultivar. Para a colheita, foram utilizados tesouras adequadas e contentores plásticos forrados com espuma de 0,5 cm de espessura. Após a colheita, os frutos foram imediatamente transportados para *packing house*, submetidos à seleção, limpeza, acondicionamento em caixas de papelão ondulado com capacidade para 2 kg, com dimensões de 34,0 x 28,0 x 9,7 cm, e armazenados em câmara fria.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 6, com três repetições. As características avaliadas, conforme metodologias especificadas, foram as seguintes:

Compostos fenólicos: doseados, após fracionamento, conforme Reicher et al. (1981). As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 720 nm e os resultados, expressos em percentagem de matéria fresca.

Polifenoloxidase: extraída segundo método proposto por Wissemann e Lee (1980). As leituras foram feitas a 395 nm e expressas em unidade de atividade enzimática ($\text{UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) de matéria fresca. Considerou-se 1 UAE como a quantidade de atividade da enzima que produziu uma mudança de 0,001 na absorbância.

Peroxidase: a extração foi feita segundo método de Wissemann e Lee (1980). A atividade foi medida conforme recomendação de Matsuno e Uritani (1972), substituindo-se o substrato o-fenilendiamina por guaiacol 1,0%. As leituras foram feitas a 470 nm e expressas em $\text{UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de matéria fresca.

Secamento do engaço: avaliado por escala subjetiva, atribuindo-se as notas: 0— ausência de secamento do engaço; 1—

início do secamento da região do pedicelo (até 50% atingido) e/ou do ápice do engaço; 2— secamento da região do pedicelo, do ápice e de até 10% do eixo principal do engaço; 3— secamento total do pedicelo e do ápice e de até 50% do eixo principal do engaço; 4— secamento do pedicelo, do ápice e de mais de 50% do eixo principal do engaço.

Injúrias mecânicas: utilizou-se a seguinte escala: 0— ausência de manchas causadas por abrasão e/ou pressão; 1— presença de manchas de abrasão e/ou pressão em até 10% das bagas; 2— presença de manchas de abrasão e/ou pressão em mais de 10% e até 25% das bagas; 3— presença de manchas de abrasão e/ou pressão em mais de 25% e até 50% das bagas; 4— presença de manchas de abrasão e/ou pressão em mais de 50% das bagas.

Podridões: determinadas pela relação percentual entre o número de bagas com sintomas de podridões e o número total de bagas da amostra.

Os valores de percentagem de podridões foram transformados em $\text{arc-sen} \sqrt{x/100}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os 70 dias de armazenamento, as uvas não tiveram variações significativas no teor de fenóis, cuja média foi 0,332% (Tabela 1). Esta resposta pode ser favorável ao prolongamento da conservação pós-colheita da uva 'Itália' uma vez que, de acordo com Landrigan *et al.* (1996), o escurecimento da casca decorrente da perda de água do fruto após a colheita aumenta com o decréscimo no nível de fenóis.

Independentemente da aplicação de cálcio, a atividade da PPO aumentou desde a colheita até os 28 dias de armazenamento (Figura 1A), quando atingiu $215,78 \text{ UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. Aos 42 dias, a atividade foi reduzida, mas, aos 56 dias, obteve-se a atividade máxima ($218,95 \text{ UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$). Ao final dos 70 dias de armazenamento, no entanto, caiu a valores próximos dos $180,44 \text{ UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ obtidos inicialmente, sugerindo uma possível redução no nível de proteínas.

Esta tendência também foi observada por Cenci (1994), em uva 'Niagara Rosada'. O autor registrou decréscimo nas atividades de PPO e POD até o 10º dia de armazenamento refrigerado, seguido por aumento até o 30º dia e nova redução no final do período.

O tratamento com cálcio reduziu em 20,59% a atividade da PPO, em relação ao controle (Tabela 1), confirmando seu efeito em retardar a senescência. Cenci (1994) também obteve redução significativa na atividade desta enzima por meio da aplicação de CaCl_2 1,0%. Segundo Silva (2000), a atividade das enzimas é alterada com o início da senescência em decorrência da desintegração das membranas das organelas.

Considerando que o tratamento com cálcio, neste experimento, não exerceu efeito sobre o conteúdo de fenólicos durante o período estudado, a redução na atividade da PPO pode representar uma menor suscetibilidade ao escurecimento enzimático.

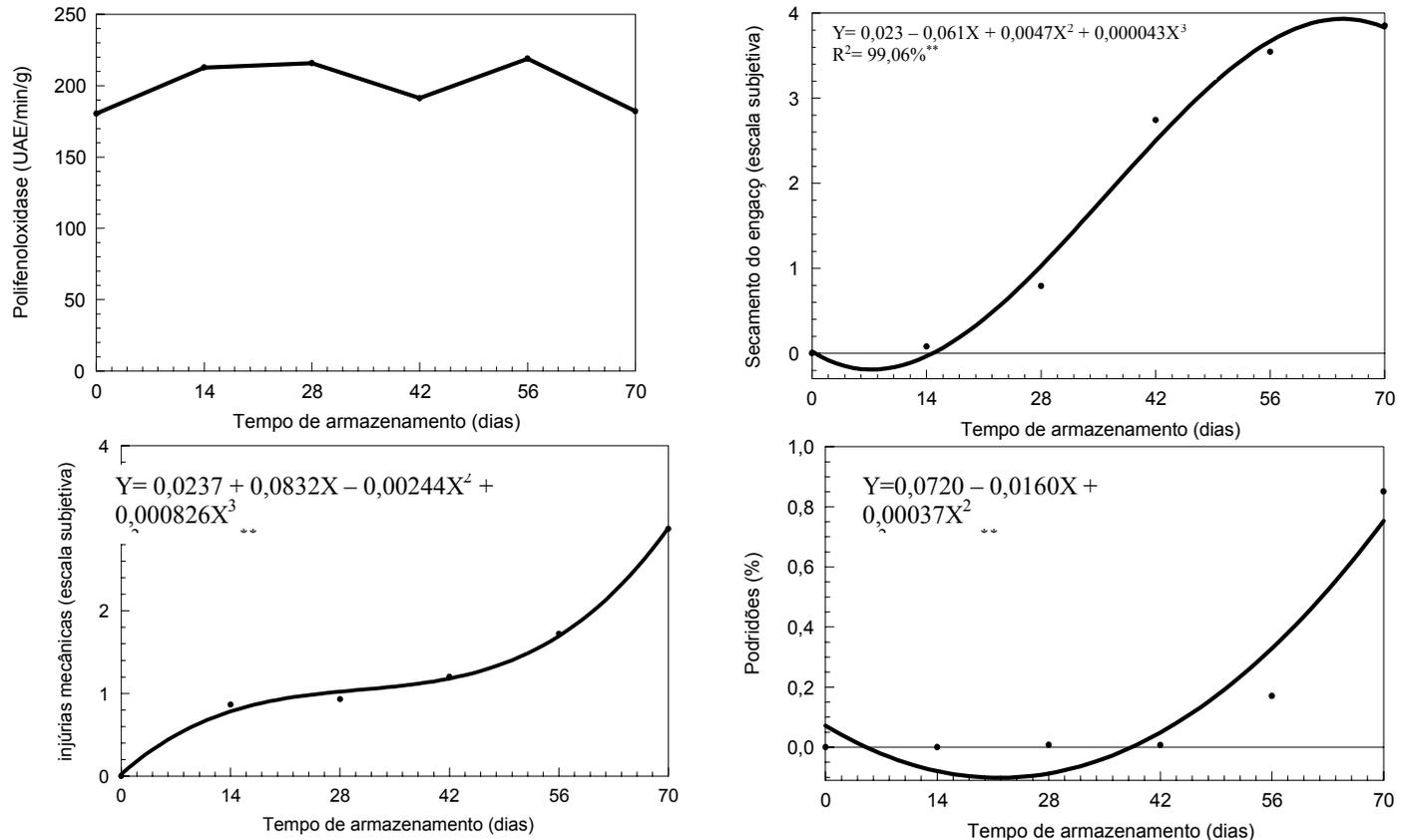
Não houve efeito nem do período de armazenamento nem do tratamento com cálcio sobre a atividade de POD, cuja atividade média foi $58,82 \text{ UAE} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ (Tabela 1).

Cenci (1994), no entanto, observou aumento na vida útil da uva 'Niagara Rosada' em consequência da redução na

TABELA 1 - Teores de compostos fenólicos, atividade de enzimas oxidativas e características qualitativas de uva 'Itália', durante o armazenamento refrigerado ($3,5\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e $93\pm 6\%$ U.R.), sob influência da aplicação pré-colheita de cálcio*.

Característica	dose de cálcio		CV (%)
	0%	1,5%	
Compostos fenólicos (% da matéria fresca)	0,332 a	0,332 a	14,99
Polifenoloxidase (UAE.min ⁻¹ .g ⁻¹)	223,18 a	177,22 b	10,84
Peroxidase (UAE.min ⁻¹ .g ⁻¹)	58,82 a	58,82 a	18,58
Injúrias mecânicas (notas)	1,89 a	1,46 b	26,41

*Médias seguidas de letras diferentes, na linha, diferem entre si, segundo teste F.

**FIGURA 1** - Atividade da polifenoloxidase (A); secamento do engaço (B); manifestação de sintomas de injúrias mecânicas (C); e ocorrência de podridões (D) de uva 'Itália' durante o armazenamento refrigerado ($3,5\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e $93\pm 6\%$ U.R.) por 70 dias

atividade da POD e do atraso no pico de atividade, em decorrência da aplicação de cálcio. Esta resposta, segundo o autor, indica retardamento da senescência.

A desidratação do engaço, observada pelo escurecimento e secamento, intensificou-se a partir dos 28 dias de armazenamento, nos frutos tratados ou não com cálcio, comprometendo o aspecto visual do cacho já aos 56 dias, ocasião em que as notas obtidas se aproximaram do valor máximo (Figura 1B).

Neste trabalho, não se observou resposta desta característica à aplicação de cálcio. No entanto, em uva 'Niagara Rosada', Cenci (1994) constatou uma redução no escurecimento do engaço durante o amadurecimento, após o tratamento com 1,0% de CaCl_2 . O autor indicou que o escurecimento e secamento do engaço, acompanhado do amolecimento das bagas, são os principais sintomas de desidratação das uvas.

Um aumento contínuo dos sintomas de injúrias mecânicas (Figura 1C) foi observado durante o armazenamento. A partir

dos 42 dias, os sintomas, caracterizados principalmente por abrasão, acentuaram-se, até atingir o valor 3,0. Esta nota equivale a frutos de restrito valor comercial.

A aplicação de 1,5% de cálcio reduziu em 21,12% os sintomas de injúrias mecânicas no fruto, em relação ao controle (Tabela 1). Esta resposta pode ser atribuída à maior resistência da parede celular e à menor atividade de PPO dos frutos tratados.

Estes resultados são concordantes com os de Cenci (1994), que verificou que o aumento na concentração de cálcio, após tratamentos pré-colheita com CaCl_2 , promoveu uma melhoria na qualidade da uva 'Niagara Rosada', reduzindo, inclusive, o número de bagas com rachaduras. Por sua vez, García et al. (1996) observaram que a aplicação de cálcio não afetou a qualidade sensorial dos frutos. Já Gonçalves et al. (1996) consideraram que a utilização de 3% de CaCl_2 foi prejudicial à aparência do limão-'Tahiti', afetando a turgidez, o frescor, o brilho e a coloração da superfície.

Bagas com podridões começaram a ser observadas a partir

dos 42 dias de armazenamento (Figura 1D). Apesar de o valor máximo, obtido aos 70 dias, ser de apenas 0,75%, já constitui um fator prejudicial à comercialização para consumo *in natura*. O mercado externo, por exemplo, segundo Gayet (1993), não admite presença de fungos em uvas de mesa.

Eris e Turkben (1989) também observaram um aumento na percentagem de perdas patológicas em algumas cultivares de uvas selecionadas para estudo, à medida que o período de armazenamento se estendia.

Segundo Conway e Sams (1987), o cálcio fornece proteção contra fungos altamente colonizadores. Neste sentido, Subburamu et al. (1990) obtiveram redução de podridões durante o armazenamento, por meio de tratamentos com cálcio, em uvas Moscato.

CONCLUSÕES

1. Independentemente do tratamento com cálcio, a vida útil da uva 'Itália' sob refrigeração é de aproximadamente 56 dias, ocasião em que se inicia a ocorrência de sinais de senescência, como podridões e intensificação dos sintomas de injúrias mecânicas. No entanto, as uvas que recebem a aplicação pré-colheita de 1,5% de Ca têm uma menor atividade de PPO e uma redução de 21,12% nos sintomas de injúrias mecânicas e, conseqüentemente, melhor aparência, durante todo o período. Estes frutos, portanto, teriam maior aceitação para compra pelos consumidores do que aqueles do controle, podendo ser mais valorizados comercialmente.

2. Prolongando-se o período de armazenamento além de 56 dias, o secamento do engajo, as injúrias mecânicas e a ocorrência de podridões intensificam-se de forma semelhante tanto nos frutos tratados como nos não tratados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM NETO, M. da S. **Informações meteorológicas dos Campos Experimentais de Bebedouro e Mandacaru**. Petrolina, PE: EMBRAPA-CPATSA, 1989. 58p. (Documentos, 57).

CARVALHO, V.D. de. Pós-colheita de uvas de mesa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.180, p.39-44, 1994.

CENCI, S.A. **Ácido naftalenoacético (ANA) e cloreto de cálcio na pré-colheita de uva Niagara Rosada (*Vitis labrusca* L. X *Vitis vinifera* L.): avaliação do potencial de conservação no armazenamento**. 1994. 109f. (Tese-Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1994.

CONWAY, W.S.; SAMS, C.E. The effects of preharvest infiltration of calcium, magnesium, or strontium on decay, firmness, respiration and ethylene production in apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.112, n.2, p.300-303, 1987.

ERIS, A.; TURKBEN, C. Changes of some quality factors during cold storage of different table grapes grown in Turkey. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 258, p.413-419, 1989.

GARCÍA, J.M.; HERRERA, S.; MORILLA, A. Effects of postharvest dips in calcium chloride on strawberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.44, n.1, p.30-33, 1996.

GAYET, J.P. Características das frutas de exportação. In: GORGATTI NETO, A.; GAYET, J.P.; BLEINROTH, E.W.; MATALLO, M.; GARCIA, E.; GARCIA, A.,E.; ARDITO, E.F.G.; BORDIN, M. **Uva para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA-SPI/FRUPEX, 1993. p.9-11. (Publicações Técnicas, 2).

GONÇALVES, N.B.; CARVALHO, V.D. de; BOTELHO, L. Avaliação do potencial de armazenamento do limão-'Tahiti' (*Citrus latifolia* Tanaka) com a utilização de baixas temperaturas e aplicação de cálcio. I-Alterações físico-químicas e qualitativas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.18, n.2, p.175-191, 1996.

HERNÁNDEZ, T.; BERNALTE, M.J.; SABIO, E.; VIDAL-ARAGÓN, M.C. Actividad peroxidasa y polifenoloxidasa de dos variedades de cereza durante la maduración. In: SIMPOSIO NACIONAL SOBRE MADURACIÓN Y POST-RECOLECCION DE FRUTOS Y HORTALIZAS, 4, SIMPOSIO IBERICO SOBRE MADURACIÓN Y POST-RECOLECCION DE FRUTOS Y HORTALIZAS, 1, 1996, Valencia. **Annales...** Valencia: Sociedad Espanhola de Fisiologia Vegetal, 1996. p.147-150.

LANDRIGAN, M.; MORRIS, S.C.; McGLASSON, B.W. Postharvest browning of rambutan is a consequence of water loss. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.121, n.4, p.730-734, 1996.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Tokio, v. 13, p.1091-1101, 1972.

REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M.R.; CORREA, J.B.C. Determinação espectrofotométrica de taninos pelo reativo fosfotúngstico-fosfomolibdico. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.24, n.4, p.407-411, 1981.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P.D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, Oxford, v.66, p.401-436, 1999.

SALUNKHE, D.K.; DESAI, B.B. **Postharvest biotechnology of fruits**. Boca Raton: CRC Press, 1984. 168p. v.1.

SIDDIQUI, S.; BANGERTH, F. Effect of pre-harvest of calcium on flesh firmness and cell-wall composition of apples – influence of fruit size. **Journal of Horticultural Science**, Reino Unido, v.70, n.2, p.263-269, 1995.

SILVA, E.M. Mecanismos bioquímicos de fisiopatias importantes de frutas. In: CONGRESO IBEROAMERICANO DE TECNOLOGIA POSTCOSECHA Y AGROEXPORTACIONES, 2,

2000, Bogotá. **Memorias...**Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2000. p.5-19.

SUBBURAMU, K.; SINGARAVELU, M.; NAZAR, A.; IRULAPPAN, I. Pre-harvest spray of calcium in grapes (*Vitis vinifera*). **South Indian Horticulture**, Peryakulam, v.38, n.5, p.268-

269, 1990.

WISSEMANN, K.W., LEE, C.Y. Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.31, n.3, p.206-211, 1980.