

ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS 'TOMMY ATKINS' EM ATMOSFERA MODIFICADA POR PELÍCULA DE REVESTIMENTO

Roseane Procópio de Aguiar¹; Luciana de Siqueira Oliveira³; Maria Raquel Alcântara de Miranda³; José Luiz Mosca²; Joaquim Enéas Filho³.

¹ Mestranda em Fitotecnia/Agronomia-UFC- rose_procopio@hotmail.com.br; ² Embrapa Agroindústria Tropical- Fortaleza-CE; ³ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular/UFC- Fortaleza-CE.

INTRODUÇÃO

A manga é um fruto climatérico, pertencente à família *Anarcadiaceae*, de grande valor comercial no mercado de frutas frescas. O Brasil é o 2º país exportador de mangas, onde a Região Nordeste se destaca como a principal região produtora, com 53% do total da produção, sendo o vale do São Francisco destaque nessa produção e exportação. Entretanto, a eficiente comercialização esbarra em alguns entraves condicionados pela pericibilidade do fruto em relação a sua fisiologia de maturação e a rápida deterioração causada por podridões.

Dentre as diversas técnicas utilizadas para manter a qualidade e prolongar a conservação de frutos durante o armazenamento, encontra-se o uso de atmosferas modificadas, que podem ser obtidas através da utilização de coberturas comestíveis ou filmes plásticos.

As coberturas comestíveis têm recebido bastante atenção de pesquisadores nos últimos anos, graças principalmente às suas propriedades de modificar as trocas gasosas e na melhoria da aparência, da integridade estrutural e propriedades mecânicas dos alimentos (Manica *et al.*, 2000).

Todo organismo aeróbico requer oxigênio como um componente essencial do seu metabolismo. Entretanto, a vida dependente de oxigênio também envolve um perigo potencial, a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) durante o transporte de elétrons ligados às membranas (cloroplasto, mitocôndria e membrana plasmática). A imposição de estresses abióticos e bióticos pode agravar a produção de ERO que são geralmente formadas durante o metabolismo normal da planta. É estimado que 1% do oxigênio consumido pelas plantas é desviado para a produção dos ERO (Bhattacharjee, 2005).

Em sistemas aeróbicos, é essencial o equilíbrio entre agentes óxido-redutores (ERO) e o sistema de defesa antioxidante. Para proteger-se a célula possui um sistema de defesa que pode atuar em duas linhas. Uma delas enzimática que atua como detoxificadora do agente antes que ele cause a lesão, sendo constituída pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX), entre outras. A outra linha de defesa tem a função de reparar a lesão ocorrida. Esta linha é constituída pelo ácido ascórbico, pela Glutathiona-redutase (GSH-Rd), entre outros (Ferreira e Matsubara, 1997).

OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi o de avaliar o efeito de película de revestimento composta de galactomanana na atividade de enzimas antioxidantes de Mangas (*Mangifera indica* L.) da cultivar Tommy Atkins.

MATERIAL E MÉTODOS

As mangas 'Tommy Atkins' foram colhidos no estágio 2 de maturação (verde comercial) e transportados para o Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita da Embrapa Agroindústria Tropical.

A película de galactomanana, extraída de sementes de *Caesapinia pulcherrima*, foi produzida no Laboratório de Lectinas e Glicoconjugados do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará.

As mangas foram submetidas a três tratamentos: frutos tratados com película e armazenados à temperatura ambiente (25°C; 92% U.R.) e sob refrigeração (13°C ± 4°C; 85% U.R.); e frutos sem aplicação de película armazenados à temperatura ambiente (25°C; 92% U.R.). Cada tratamento foi realizado com três repetições, cada repetição composta por dois frutos. O experimento foi analisado em 7 tempos com duração de 18 dias após a colheita. A primeira análise ocorreu no dia da colheita e após esta análise os frutos foram analisados em intervalos regulares de 3 dias.

Nas extrações das enzimas foram utilizadas amostras de 200 mg de polpa liofilizada e homogeneizadas em tampão Tris-HCl 0,05 M por 10 min. Em seguida, as misturas foram filtradas e centrifugadas a 10.000 g por 15 min à 4°C. Os sobrenadantes foram armazenados a -25°C.

Para a determinação da atividade catalásica, colocou-se 1290 µl de tampão fosfato 100 mM com EDTA 0,1 mM (pH 7,0) em tubo de ensaio em banho-maria a 30°C. Adicionou-se 60 µl de H₂O₂ 500 mM e 150 µl do extrato à solução tampão. A atividade da catalase foi realizada em triplicata e determinada a 240 nm. Os resultados foram expressos em µmol H₂O₂/ gMS.min (Beers e Sizer, 1952).

Para a determinação da atividade da peroxidase do ascorbato, colocou-se 1350 µl de tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM com EDTA 0,25 mM (pH 6,0) em tubo de ensaio em banho-maria a 30°C. Adicionou-se 150 µl do extrato e 50 µl de H₂O₂ 30 mM à solução tampão. Por último, adicionou-se 50 µl de ácido ascórbico 15 mM. A atividade da peroxidase do ascorbato foi realizada em triplicata e determinada a 290 nm. Os resultados foram expressos em µmol H₂O₂/ gMS.min (Nakano e Asada, 1981).

Na determinação da superóxido dismutase (Giannopolitis e Ries, 1977), colocou-se 1000 µl de tampão fosfato de potássio 50 mM com EDTA 0,1 mM e metionina 19,5 mM (pH 7,8) em tubo de ensaio à temperatura ambiente. Adicionou-se 50 µl do extrato ao tampão. Na ausência de luz, foi adicionado ao tampão 150 µl de Nitro Blue Tetrazolium 750 µM e 300 µl de Riboflavina 10 µM. Após o preparo das amostras, os tubos foram colocados em uma caixa iluminada (lâmpada fluorescente 20 W) por 15 min. Em seguida, os tubos foram retirados da caixa e protegidos da exposição à luz. A atividade da superóxido dismutase foi realizada em triplicata e determinada a 560 nm. Os resultados foram expressos em UAE/ gMS. Uma unidade da atividade da enzima (UAE) foi definida como a quantidade da enzima que causa metade da inibição máxima do NBT à Formazana.

Para a peroxidação de lipídeos, colocou-se 250 mg de matéria seca em um erlenmeyer com 6 ml de ácido tricloroacético 1% e agitado para precipitação de proteínas por 2 h. Centrifugou-se a 10.000 g por 10 min. Para preparação das amostras, foram utilizados 500 µl de extrato e 2000 µl de solução de ácido tiobarbitúrico. Os tubos de ensaio com as amostras foram colocados em banho-maria a 95°C por 1 h. As leituras foram realizadas a 532 nm e 660 nm. A diferença dos valores entre as duas absorvâncias foi utilizada no cálculo da peroxidação. Os resultados foram expressos em µmol Malonaldeído (MDA)/gMS (Heath e Packer, 1968).Malonaldeído.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os frutos testemunha apresentaram uma elevada atividade da SOD no dia da colheita, reduzindo sua atividade até o 6º dia de armazenamento, com um aumento de atividade até o 15º dia (1643,3 UAE/g) e decrescendo levemente até o final do armazenamento. Essa atividade elevada da SOD no início do armazenamento pode ser consequência do estresse ocorrido no dia da colheita. Nos frutos revestidos, armazenados em temperatura ambiente, foram observados dois picos de atividade da enzima ao 9º (1632,9 UAE/ g) e 18º dias (2185,5 UAE/ g). Ao contrário do observado nos frutos armazenados em temperatura ambiente, os frutos refrigerados apresentaram elevada atividade da enzima SOD durante todo o armazenamento, com exceção do 3º dia. A maior atividade foi observada nos 9º (2750,4 UAE/ g) e 15º dias (2582,3 UAE/ g).

A peroxidação de lipídeos mostrou-se intimamente relacionada com a atividade da SOD. Nos frutos testemunha, houve uma redução na peroxidação ao 6º dia de armazenamento mantendo-se até o 15º dia, quando foi observado um aumento na peroxidação, simultaneamente a uma diminuição na atividade da SOD, devido a senescência dos frutos nesse período. A peroxidação foi reduzida durante todo o armazenamento nos frutos revestidos armazenados à temperatura ambiente, demonstrando a eficiência na atividade da SOD. Nos frutos refrigerados, houve uma queda acentuada na peroxidação ao 6º dia devido à elevada atividade da SOD nesse mesmo período. Em seguida, foi observado um aumento na peroxidação até o final do armazenamento mesmo com a atividade da SOD elevada. Isso possivelmente ocorreu pela intensa produção das EROS, como consequência de injúrias causadas pelo frio, não permitindo a eficiência da atividade da SOD como sistema antioxidante. Segundo Bhattacharjee (2005), se a acumulação de ERO exceder a capacidade antioxidante enzimática e não-enzimática de remoção dos radicais livres, pode haver destruição das células.

A atividade da enzima catalase nos frutos testemunha apresentou um aumento durante o armazenamento, onde foi observado um pico ao 12º dia (66,67 µmol H₂O₂/ g.min). Comportamento semelhante foi observado nos frutos tratados com película à temperatura ambiente, entretanto o pico de atividade foi observado ao 9º dia (67,13 µmol H₂O₂/ g.min) de armazenamento. Os frutos refrigerados apresentaram o maior pico de atividade da enzima no 3º dia (118,52 µmol H₂O₂/ g.min), tendo sua atividade reduzida após esse período. Foyer *et al.* (1997) comenta que a exposição de frutos a baixas temperaturas resulta em uma acumulação de H₂O₂ como sinal de estresse oxidativo e ativa um sistema de defesa antioxidante. O aumento na atividade da catalase nos frutos armazenados a 13°C ±

4°C está de acordo com os resultados de Ju *et al.* (1994) que comenta que a atividade da catalase é mais sensível a baixas temperaturas que a atividade da SOD.

Os frutos testemunha apresentaram um pico de atividade da APX no 3º dia de armazenamento (2,32 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{g}\cdot\text{min}$). Posteriormente, houve uma redução na atividade até o final do período de armazenamento. Os frutos tratados com película e armazenados em temperatura ambiente, tiveram comportamento semelhante àquele dos frutos testemunha. Nos primeiros 3 dias de armazenamento, a atividade da APX nos frutos refrigerados apresentou-se elevada, entretanto após esse período ocorreu uma redução da atividade até o 9º dia. A partir do 9º dia, observou-se um pequeno aumento na atividade da enzima até o 12º dia, decrescendo então até o final do experimento.

O aumento na atividade da APX no período inicial do armazenamento observado nos três tratamentos coincide com o início do amadurecimento dos frutos. Esse amadurecimento pode ser comprovado por uma redução pronunciada na acidez total titulável e na firmeza, devido a um aumento na peroxidação dos lipídeos da membrana em torno desse período. Entretanto, o pequeno aumento na atividade da enzima dos frutos refrigerados após o 15º dia de armazenamento pode ser explicado possivelmente por injúria pelo frio.

A catalase e a APX apresentaram-se mais eficientes na degradação do H_2O_2 nos frutos refrigerados no início do amadurecimento, entretanto nos frutos testemunha e nos tratados com película armazenados a 25°C, apenas a enzima APX apresentou uma melhor atividade nesse mesmo período. As atividades da APX e da catalase podem ser importantes nos processos de amadurecimento de frutos e senescência pela remoção, nos tecidos, do excesso de H_2O_2 que é produzido principalmente pela atividade da SOD.

CONCLUSÃO

A película composta de galactomanana mostrou-se eficiente na manutenção da firmeza de mangas 'Tommy Atkins' armazenadas em temperatura ambiente. Entretanto, seu efeito sobre frutos refrigerados a $13^\circ\text{C} \pm 4^\circ\text{C}$ não pôde ser concluída devido à injúrias por frio.

A catalase e a APX apresentaram-se mais eficientes na degradação do H_2O_2 nos frutos refrigerados no início do amadurecimento, entretanto nos frutos testemunha e tratados com película ambiente, apenas a enzima APX apresentou uma melhor atividade nesse mesmo período.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEERS Jr., R.F. & SIZER, I.W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, v. 195, p. 133-140, 1952.

BHATTACHARJEE, S. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current science*, vol. 89, nº7, 10 october, 2005.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev. Ass. Méd. Brasil*; 43 (1): 61-68, 1997.

FOYER, C. H.; LOPEZ-DELGADO, H.; DAT, J. F.; SCOTT, I. M. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling- *Physiol. Plant.* 100: 241-254. 1997.

GIANNOPOLITIS, C.N. & RIES, S.K. Superoxide dismutases. I. occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, v. 59, p. 309-314, 1977.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acids peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198. 1968.

JU, Z. G.; YUAN, Y. B.; LIU, C. L.; DAÍ, H. Y.; LIU, R. J. Effect of low temperature on H_2O_2 level during storage of apples- *J. Fruit Sci.* 11: 10-13. 1994.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SALVADOR, J. O.; MOREIRA, A.;

NAKANO, Y. & ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, v. 22, p. 867-880, 1981.



ESCOLHA O TRABALHO PELO CÓDIGO E UTILIZE O SISTEMA DE BUSCA NO CD, PARA ABRÍ-LO.

QUA-02	ACOMPANHAMENTO MICROBIOLÓGICO E FÍSICO - QUÍMICO DA FABRICAÇÃO DE PELE DE TILÁPIA DO NILO, OREOCHROMIS NILOTICUS Daniela da Silva Cavalcante, Margarida Maria Monteiro Vasconcelos, Adalva Lopes Machado, José Mauro de Sousa Teixeira, Maria Aliciane Fontenele Domingues
QUA-03	ANÁLISES FÍSICAS, QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E ROTULAGEM NUTRICIONAL DA FIBRA DE MARACUJÁ COMERCIALIZADA EM FORTALEZA-CE. Celina Maria Gentil de Farias, Mário Sérgio Rodriguez Ferreira, Raimunda Cesarina de Freitas Gonçalves, Raimunda Célia Pereira de Freitas, Luís Carlos Alencar da Silva,
QUA-04	ASPECTOS DE QUALIDADE DO PARGO (LUTJANUS PURPUREOS) EM BALCÃO DE EXPOSIÇÃO DE SUPERMERCADO Vinicius Rodrigues de Castro e Silva / Elisabeth Mary Cunha da Silva, Evânia Altina Teixeira de Figueiredo
QUA-05	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE OLEORRESINA DE PIMENTAS BRASILEIRAS PELO MÉTODO DO DPPH Daise Lopes Lutz, Rosemar Antoniassi, Humberto Ribeiro Bizzo
QUA-06	ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANGAS 'TOMMY ATKINS' EM ATMOSFERA MODIFICADA POR PELÍCULA DE REVESTIMENTO Roseane Procópio Aguiar, Luciana de Siqueira Oliveira, Maria Raquel Alcantara Miranda, José Luiz Mosca, Joaquim Enéas-Filho
QUA-07	AVALIAÇÃO DA CONTRATAÇÃO DE BOLSISTAS NA IMPLANTAÇÃO DO SISTEMA DE QUALIDADE DO LACEN-CE. Adriana Carvalho de Albuquerque, Sara Menezes de Oliveira, André Pontes Thé, Elza Gadelha Lima, Maria Alice Ribeiro Passos.
QUA-08	AVALIAÇÃO DA IMPLANTAÇÃO DE REQUISITOS DA QUALIDADE EM LABORATÓRIOS DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS Paula Ferreira, Silvânia Mattos, Ana Camila Campos
QUA-09	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ANALÍTICA DO LABORATÓRIO NA DETERMINAÇÃO DE UMIDADE Sidinéa Cordeiro Freitas, Rosemar Antoniassi
QUA-10	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MÊIS NATURAIS PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NO RIO DE JANEIRO - ESTUDOS PRELIMINARES Mariana dos Santos Bello, Fábio Cerdeira Lirio, Sandra Regina Gregório, Mirian Ribeiro Leite Moura
QUA-11	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE UM SERVIÇO DE ALIMENTAÇÃO HOTELEIRA EM FORTALEZA-CE Mirele da Silveira Vasconcelos, Márcia Andréia Moura Fé, Angela Maria Coelho Torres, Gabriela Cardoso Girão, Lília Rocha Rolim, Valéria Melo de Souza
QUA-12	AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS PANIFICÁVEIS DOS PÃES ELABORADOS COM SUCO DE UVA E VITAMINA C. Stella Regina Sobral Arcanjo, Anida Maria Moraes Gomes, Claudio Ernani Mendes da Silva, Maria do Carmo Passos Rodrigues, Márcia Leal Medeiros
QUA-13	AVALIAÇÃO DOS FATORES QUE AFETAM A QUALIDADE DE PEITO DE FRANGO PARA EXPORTAÇÃO Daniela Fincato, Luciana Oliveira de Fariña, Deisy Alessandra Drunkler, Leandro Munchen, Marinês Paula Corso, Rubiane Ferreira