

1 **Efeito da radiação ultravioleta pulsada sobre a parede celular de**
2 **mangas minimamente processadas** **Aline E. D. de Sousa¹; Marcia R. S. da**
3 **Silveira²; Rolf Puschmann³; Ebenezer O. Silva⁴; Thais A. Germano⁵; Maria I.**
4 **Gallão⁶.**

5
6 ^{1,2,4} Embrapa Agroindústria Tropical - Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Campus do Pici, 60.511-110 –
7 Fortaleza-CE. aedsousa@gmail.com, ebenezer.silva@embrapa.br. ³UFV – Universidade Federal de
8 Viçosa – Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário, 36570-900 – Viçosa-MG. rolf@ufv.br.
9 ^{5,6}UFC – Universidade Federal do Ceará – Av. Mister Hull s/n, 60.356-000 – Fortaleza-CE.
10 tandradeg@gmail.com, izagalao@gmail.com.
11

12 **RESUMO**

13 Pulsos de radiação ultravioleta (UV_p) vêm sendo utilizado como estratégia alternativa
14 para o controle dos micro-organismos em alimentos. Contudo, a UV_p pode estimular a
15 degradação da parede celular de frutas e hortaliças. Neste estudo, o objetivo foi avaliar o
16 efeito de diferentes pulsos de radiação ultravioleta (UV) sobre a parede celular de
17 mangas minimamente processadas. Após o processamento mínimo e aplicação de
18 diferentes doses de UV_p (0; 1,5; 3,0; 4,2; 5,7 e 7,2J cm⁻²), cubos de manga foram
19 conservadas a 5°C por 1, 7 e 14 dias, e avaliadas quanto a atividade da
20 pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG), além de avaliações histoquímicas.
21 Observou-se aumento a atividade da PME e PG em cubos tratados com UV_p, porém,
22 este aumento das enzimas não significou em degradação da parede celular das mangas
23 minimamente processadas após 14 dias de conservação a 5°C.

24 **Palavras-chave:** *Mangifera indica* L., processamento mínimo, pectinametilesterase,
25 poligalacturonase.
26

27 **ABSTRACT**

28 **The effect of pulsed ultraviolet radiation over cell wall of minimally**
29 **processed mangoes**

30 Pulsed ultraviolet radiation (UV_p) have been used as an alternative strategy for the
31 control of microorganisms in food. However, UV_p can stimulate the degradation of the
32 cell wall of fruits and vegetables. The aim of this study was to evaluate the effect of
33 different ultraviolet radiation pulses on the cell wall of minimally processed mangoes.
34 After processing and application of different dosage levels pulses of UV_p (0 , 1.5, 3.0 ,
35 4.2 , 5.7 and 7,2J cm⁻²), mango cubes were stored at 5 ° C for 1, 7 and 14 days , and

36 pectin methyl esterase (PME) and polygalacturonase (PG) activity and
37 immunohistochemical evaluation was analysed. There was an increase in activity of
38 PME and PG in cubes treated with UV_p, however, it wasn't observed a cell wall
39 degradation of minimally processed mangoes after 14 days of storage at 5 ° C.

40 **Keywords:** *Mangifera indica* L., fresh-cut, pectin methyl esterase, polygalacturonase.

41

42 **INTRODUÇÃO**

43 Pulsos de radiação ultravioleta (UV_p) vêm sendo utilizada como estratégia
44 alternativa para o controle dos micro-organismos em alimentos (Krishnamurthy et al.,
45 2007). Contudo, a aplicação de UV_p, por tempo prolongado, estimula o metabolismo
46 dos vegetais, levando à mudanças metabólicas indesejáveis (Gómez-López et al., 2005
47 a, b; Jun et al., 2003), tais como degradação da parede celular (Barka et al., 2000;
48 Pombo et al., 2009).

49 O amolecimento dos tecidos é um dos processos afetados pela UV_p, e um
50 aumento na atividade das enzimas envolvidas na degradação da parede celular após
51 aplicação de UV já foi constatado em tomate e morango (Barka et al., 2000; Pombo et
52 al., 2009). A pectinametilesterase (PME) e a poligalacturonase (PG) são enzimas
53 responsáveis por modificações da parede celular dos frutos (Li et al., 2010). As
54 substâncias pécticas constituem-se na classe de polissacarídeos da parede celular que
55 sofrem a mais marcante modificação durante o amadurecimento, e elas são alvos da
56 atuação destas enzimas. A PME catalisa a desmetilação da pectina, tornando-a
57 susceptível a degradação pela PG (Brummell & Harpster, 2001).

58 Assim, este estudo tem como objetivo verificar o efeito de diferentes pulsos de
59 radiação ultravioleta (UV_p) sobre a degradação da parede celular de mangas
60 minimamente processadas irradiadas e conservadas por 14 dias a 5°C.

61

62 **MATERIAL E MÉTODOS**

63 Mangas (*Mangifera indica* L.) 'Tommy Atkins' selecionadas (estádio de
64 maturação e ausência de injúrias e doenças) foram lavadas, sanitizadas, descascadas,
65 cortadas em cubos, enxaguadas e drenadas por 3 minutos. Depois, foram submetidas aos
66 diferentes tratamentos com UV_p, na potência máxima das lâmpadas (900J), resultando
67 em diferentes densidades energéticas, de acordo com o número de pulsos, equivalentes

68 a: 0 (sem UV_p), 1,5; 3,0; 4,2; 5,7 e 7,2J cm⁻². Após os tratamentos, 250g de mangas
69 minimamente processadas foram acondicionadas em embalagens de polietileno
70 tereftalato (PET) com tampa e armazenadas em câmara fria (5 ± 1°C e UR 85 ± 5%) por
71 14 dias. As análises foram realizadas no 1º, no 7º e no 14º dia de conservação.

72 Para análise da PME, preparou-se o extrato enzimático de acordo com Körner et
73 al. (1980) e atividade enzimática segundo Kertesz (1995). Realizou-se a extração e
74 atividade da poligalacturonase conforme método descrito por Pressey & Avants (1973)
75 e Buescher & Furmanski (1978), respectivamente. Para avaliações histoquímicas, as
76 amostras foram fixadas (Karnovsky, 1965), desidratadas em bateria crescente de etanol,
77 infiltradas em historesina e cortadas (5µm). Os corantes histoquímicos utilizados foram
78 o Azul de Toluidina e reação pelo ácido periódico e reativo de Schiff (PAS). As
79 observações e as imagens foram realizadas em microscópio de luz (Modelo BX41-
80 Olympus) acoplado a uma câmera digital (Modelo UC 30) e um computador,
81 utilizando-se o *software* “CELL”.

82 Os experimentos foram analisados em parcelas subdivididas com o fator radiação
83 na parcela (6 densidades de radiação) e o fator tempo de conservação na subparcela (3
84 períodos de conservação). O delineamento experimental foi organizado em blocos
85 casualizados, com três repetições, totalizando 54 parcelas. Os dados obtidos foram
86 submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a
87 5% de probabilidade.

88

89 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

90 Não foi observada interação significativa ($P>0,05$) entre as doses e o tempo de
91 conservação para a atividade da pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG).
92 Observou-se aumento ($P<0,05$), na atividade da PME no primeiro (cubos tratados com
93 4,2J cm⁻² de UV_p) e décimo quarto (cubos tratados com 1,5, 3,0, 4,2 e 5,7J cm⁻² de UV_p)
94 dia de conservação refrigerada (Tabela 1).

95 Do mesmo modo, a UV_p aumentou ($P<0,05$) a atividade da poligalacturonase
96 (PG) no primeiro (cubos tratados com 4,2J cm⁻² de UV_p) e sétimo dia de conservação
97 (1,5 e 7,2J cm⁻² de UV_p) (Tabela 1).

98 Apesar da influencia do UV_p em aumentar a atividade da PME e PG das mangas,

99 não foi possível visualizar, com auxílio de análises histoquímicas, alterações marcantes
100 na parede celular (Figura 1 e 2). O mesocarpo dos frutos irradiados e conservados por
101 14 dias foi muito semelhante ao do controle, permanecendo praticamente inalterado. As
102 colorações pela reação do PAS e Azul de Toluidina coraram a parede celular devido à
103 presença de pectina, celulose e hemicelulose (açúcares neutros). O mesocarpo dos frutos
104 irradiados conservados por 14 dias é muito semelhante ao controle, permanecendo
105 praticamente inalterado durante toda a conservação a 5°C.

106 A conservação das mangas minimamente processadas utilizando baixa
107 temperatura (5°C) pode, neste experimento, ter favorecido a manutenção da integridade
108 celular, reduzindo a atividade das enzimas hidrolíticas da parede. Talvez a aplicação da
109 radiação UV na forma de pulsos, ou mesmo as baixas densidades energéticas utilizadas
110 neste estudo não sejam agressivos o suficiente para causar alterações na estrutura da
111 parede celular.

112 Assim, aumento a atividade da PME e PG não significou em degradação da parede
113 celular das mangas minimamente processadas e tratadas com UV_p, após 14 dias de
114 conservação refrigerada (5°C).

115

116 **AGRADECIMENTOS**

117 Ao BNB que financiou o projeto, a Embrapa pelo apoio e a CAPES pela concessão da
118 bolsa de pós-graduação.

119

120 **REFERÊNCIAS**

121 BARKA, E. A.; KALANTARI, S.; MAKHLOUF, J.; ARUL, J. Impact of UV-C
122 irradiation on the cell wall-degrading enzymes during ripening of tomato (*Lycopersicon*
123 *esculentum* L.) fruit. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, 48, 667-671, 2000.

124

125 BRUMMELL, D. A.; HARPSTER, M. H. Cell wall metabolism in fruit softening and
126 quality and its manipulation in transgenic plants. **Plant Molecular Biology**, 47, 311-
127 340, 2001.

128

Sousa, A.E.D., Silveira; M. R. S. da, Puschmann, R., Silva, E. O., Germano, T. A., Gallão, M. I.. 2015. Efeito da radiação ultravioleta pulsada na degradação da parede celular de mangas minimamente processadas. **In: Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

- 129 BUESCHER, R. W.; FURMANSKI, R. J. Role of pectinesterase and polygalacturonase
130 in the formation of woolliness in peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, 43, 264–
131 266, 1978.
- 132
- 133 GÓMEZ-LÓPEZ, V.M.; DEVLIEGHIERE, F. BONDUELLE, V., DEBEVERE, J.
134 Intense light pulses decontamination of minimally processed vegetables and their shelf-
135 life. **International Journal of Food Microbiology**, 103, 79– 89, 2005a.
- 136
- 137 GÓMEZ-LÓPEZ, V.M.; DEVLIEGHIERE, F. BONDUELLE, V., DEBEVERE, J.
138 Factors affecting the inactivation of microorganisms by intense light pulses. **Journal**
139 **Applied Microbiology**, 99, 460-470, 2005b.
- 140
- 141 JUN, S.; IRUDAYARAJ, J.; DEMIRCI, A.; GEISER, D. Pulsed UV-light treatment of
142 corn meal for inactivation of *Aspergillus niger* spores. **International Journal of Food**
143 **Science and Technology**, 38, 883–888, 2003.
- 144
- 145 KARNOVISKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for
146 use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, 27, 137-138, 1965.
- 147
- 148 KERTESZ, Z. I. Pectic enzymes. In: COLOWICK, S. P.; KAPLAN N. O. Methods in
149 enzymology. New York: **Academic Press**, 1, 1995, 1581p.
- 150
- 151 KÖRNER, B.; ZIMMERMANN, G.; BERK, Z. Orange pectinesterase: Purification,
152 properties and effect on cloud stability. **Journal of Food Science**, 45, 1203-1206, 1980.
- 153
- 154 KRISHNAMURTHY, K.; DEMIRCI, A.; IRUDAYARAJ, J.M. Inactivation of
155 *Staphylococcus aureus* in Milk Using Flow-Through Pulsed UV-Light Treatment
156 System. **Journal of Science**, 72, 233 – 239, 2007.
- 157
- 158 LI, J.; ZHANG, Q.; CUI, Y.; YAN, J.; CAO, J.; ZHAO, Y.; JIANG, W. Use of UV-C
159 Treatment to Inhibit the Microbial Growth and Maintain the Quality of Yali
160 Pear. **Journal of Food Science**, 75, 503-50, 2010.

Sousa, A.E.D., Silveira, M. R. S. da, Puschmann, R., Silva, E. O., Germano, T. A., Gallão, M. I.. 2015. Efeito da radiação ultravioleta pulsada na degradação da parede celular de mangas minimamente processadas. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

161

162 PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Separation and characterization of
163 endopolygalacturonase and exopolygalacturonase from peaches. **Plant Physiology**, 52,
164 252-256, 1973.

165

166 POMBO, M. A.; DOTTO, M. C.; MARTÍNEZ, G. A.; CIVELLO, P. M. UV-C
167 irradiation delays strawberry fruit softening and modifies the expression of genes
168 involved in cell wall degradation. **Postharvest Biology and Technology**, 51, 141-148,
169 2009.

170

171 **Tabela 1.** Atividade de enzimas da parede celular de manga (*Mangifera indica* L. var.
172 ‘Tommy Atkins’) minimamente processada durante conservação refrigerada submetidas
173 a diferentes pulsos de radiação ultravioleta. (Enzymes activity of the cell wall of
174 minimally processed mango (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins) during
175 refrigerated storage under different dosage levels pulses of UVp).

Enzima	Doses (J cm ⁻²)	Dias, 5 ± 1°C		
		1	7	14
Pectinametilesterase (UA/min.µg prot.)	0	21,5 Ab	25,4 Aa	23,8 Ab
	1,5	24,3 Ab	24,9 Aa	32,0 Aa
	3,0	26,2 Ab	29,2 Aa	28,4 Aa
	4,2	35,5 Aa	24,7 Ba	35,1 Aa
	5,7	21,7 Bb	35,7 Aa	34,1 Aa
	7,2	18,7 Ab	22,4 Aa	21,6 Ab
Poligalacturonase (nmol AR/min.µg prot.)	0	0,3 Ab	0,5 Ab	0,3 Aa
	1,5	0,7 Ab	1,2 Aa	1,0 Aa
	3,0	0,7 Ab	0,7 Ab	0,6 Aa
	4,2	1,2 Aa	0,4 Bb	0,5 Ba
	5,7	0,4 Ab	0,6 Ab	0,3 Aa
	7,2	1,5 Aa	1,2 Aa	0,7 Ba

176 Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical
177 não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. (Means followed
178 by the same uppercase horizontally and lowercase letters vertically do not differ by the
179 Scott- Knott test at 5 % probability).

180

181

182

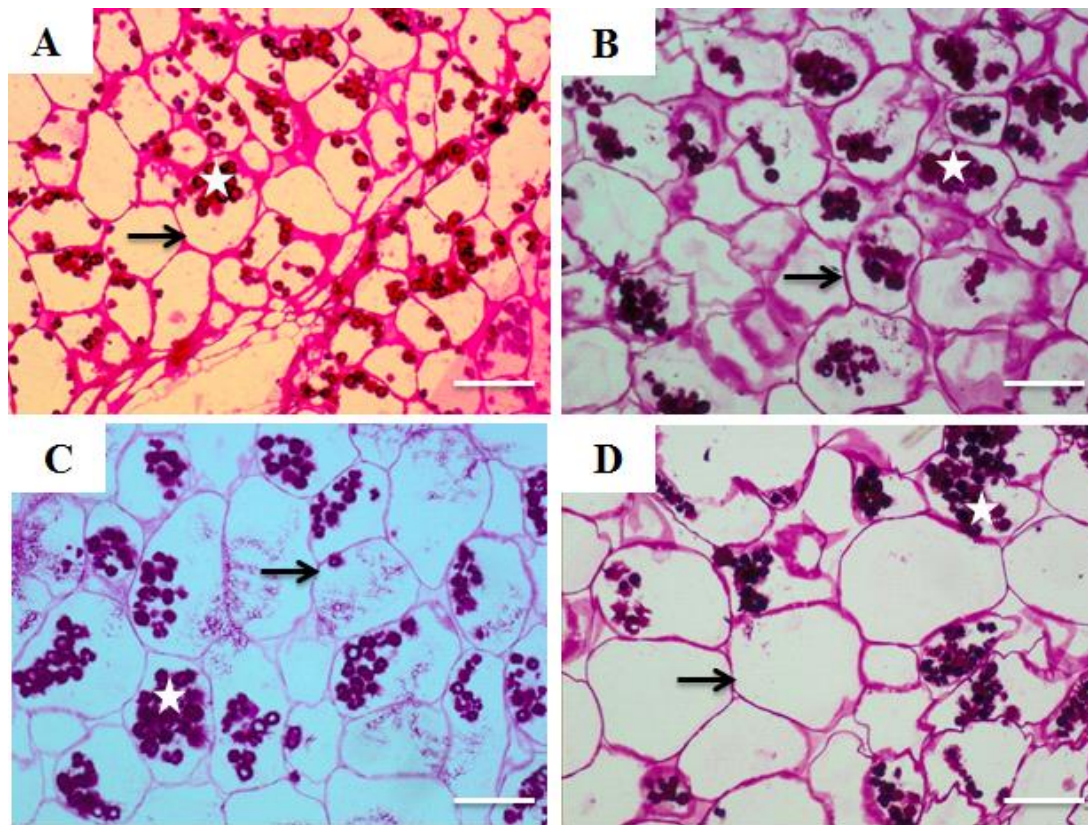
183

184

185

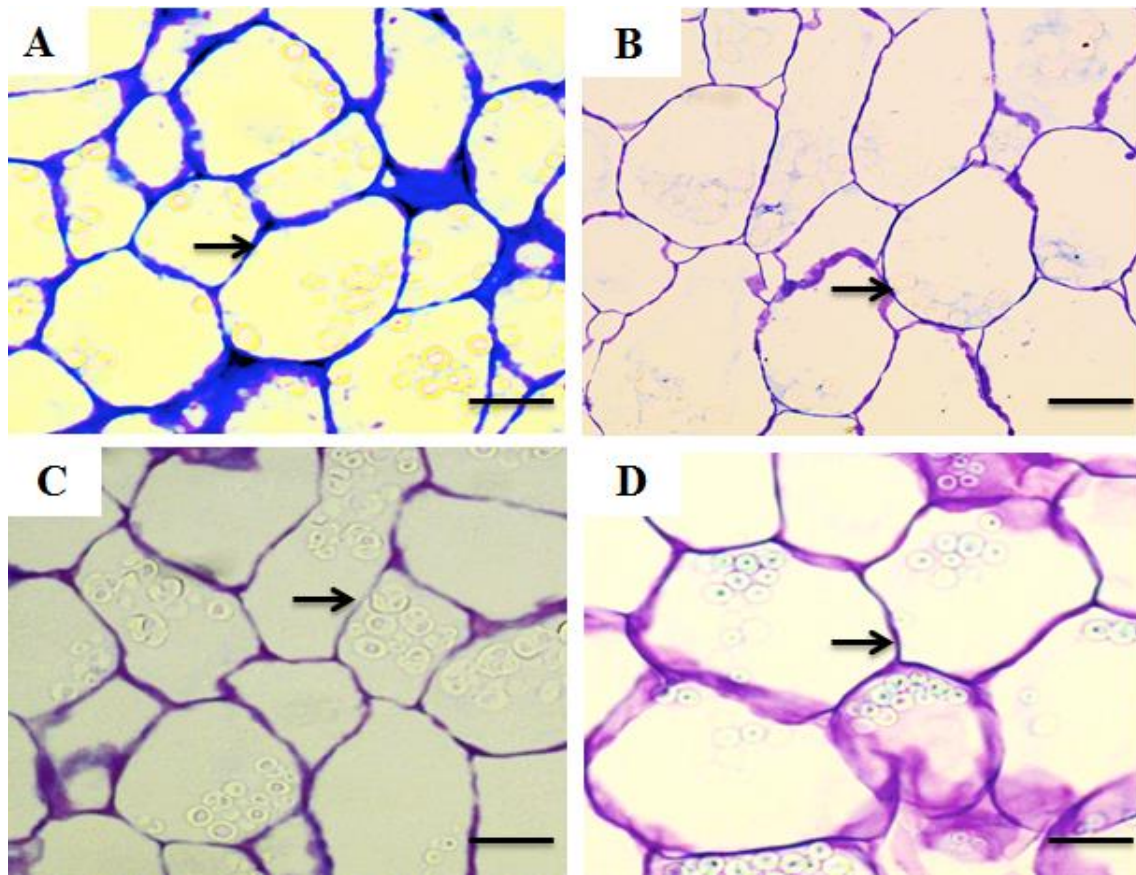
186

187



188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199

Figura 1: Sessões transversais do mesocarpo de manga (*Mangifera indica* L. var. 'Tommy Atkins') minimamente processada tratada com 0 (A e B) e 7,2J cm⁻² (C e D) de UV_p, conservadas a 5 ± 1°C, por 1 (A e C) e 14 dias (B e D) submetidas a reação do PAS. As setas indicam a parede celular e as estrelas a presença de amido. Barra: 100μm. (Cross sections mango mesocarp (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins) minimally processed treated with 0 (A and B) and 7,2J cm⁻² (C and D) UVP, stored at 5 ± 1 ° C, for 1 (A and C) and 14 days (B and D) subjected to the PAS reaction Arrows indicate the cell wall and the stars the presence of starch bar: 100μm).



200
201
202
203
204
205
206
207
208
209

Figura 2. Sessões transversais do mesocarpo de manga (*Mangifera indica* L. var. 'Tommy Atkins') minimamente processada tratada com 0 (A e B) e 7,2J cm⁻² (C e D) de UV_p, durante conservação refrigerada a 5 ± 1°C, por 1 (A e C) e 14 dias (B e D) coradas com Azul de Toluidina (0,025%). As setas indicam a parede celular. Barra: 100μm. (Cross sessions mango mesocarp (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins) minimally processed treated with 0 (A and B) and 7,2J cm⁻² (C and D UVP during cold storage at 5 ± 1 ° . C for 1 (A and C) and 14 days (B and D), stained with Toluidine Blue (0.025 %) the arrows indicate the cell wall bar: 100μm).