



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO - MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

**Constituintes da parede celular de duas
cultivares de mamão: influência do estágio de
maturação**

EMMANUELA PRADO DE PAIVA

RECIFE
2008

EMMANUELA PRADO DE PAIVA

**Constituintes da parede celular de duas
cultivares de mamão: influência do estágio de
maturação**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição, área de concentração Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. José Almiro da Paixão

RECIFE
2008

Paiva, Emmanuela Prado de

Constituintes da parede celular de duas cultivares de mamão: influência do estágio de maturação / Emmanuela Prado de Paiva. – Recife: O Autor, 2008.

xiv, 89 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2008.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Bioquímica pós-colheita. 2. Polissacarídeos pécnicos.
I. Título.

634.651

CDU (2.ed.)

UFPE

664.804 651

CDD (22.ed.)

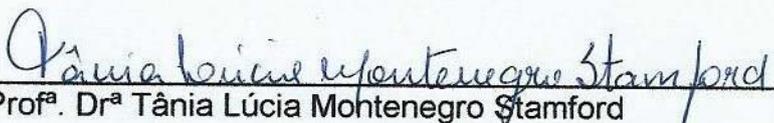
CCS2008-037

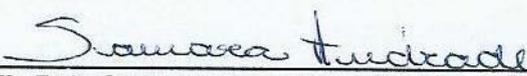
TÍTULO: Constituintes da parede celular de duas cultivares de mamão:
influência do estágio de maturação

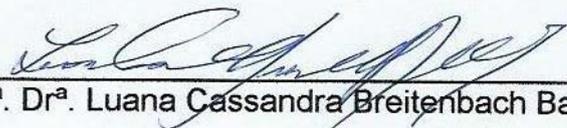
MESTRANDA: Emmanuela Prado de Paiva

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 25/02/2008

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA


Prof^ª. Dr^ª Tânia Lúcia Montenegro Stamford


Prof^ª. Dr^ª. Samara Alvachian Cardoso Andrade


Prof^ª. Dr^ª. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho

A meus pais, João Paiva de Souza e Djanete Araújo do Prado, por todos os esforços dedicados a minha formação, pelo estímulo, confiança, amor e carinho, e por sempre me permitirem sonhar os meus sonhos.

Ao meu companheiro René Fabian Sobreira, pela sua incansável paciência em me incentivar e estimular mesmo nos momentos quando me pareceu impossível continuar,
EU TE AMO!

Aos meus Irmãos Ana Carolina do Prado Iglesias, João Phelipe Prado Paiva de Souza e Luana Lopes de Paiva, aos quais manifesto minha gratidão por participarem da minha vida de forma a engrandecê-la.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** e **Meishu-Sama** por me acompanharem nesta trajetória, hoje vencida, me iluminando e permitindo sempre tomar as melhores decisões;

Aos meus Padrinhos **Bernadete Pacheco de Araújo** e **José Pacheco**, por exercerem intensamente em minha vida seus papéis, sendo sempre um exemplo a todos;

Aos meus cunhados (as) **Ricardo** e **Fernanda** hoje membros de nossa família, pelos incentivos, e carinho nos momentos alegres e tristes;

Aos meus primos: **Thiago, Carlinhos, Matheus, Jaqueline, Larissa, Monica Pacheco** que aqui cito os nomes apenas para representar todos os outros, que sempre fizeram parte de minha vida e comigo conviveram momentos inesquecíveis!

A todos os meus tios, com carinho!

Ao meu orientador **Jose Almiro da Paixão**, que me recebeu mesmo sem ter nenhum referencial meu, por ter me dado confiança, dedicação, e ensinamentos, por ter me possibilitado SEMPRE conhecer pessoas que acrescentaram em minha vida profissional de forma substancial, OBRIGADA!

Ao meu Pai científico **José Roberto Botelho de Souza** a quem devo extrema gratidão, por me ensinar o pensamento científico;

As minhas *inesquecíveis* amigas da turma de mestrado **Ana Elizabeth Cavalcante Fai, Amanda de Moraes Oliveira, Daniela Souza Soares, Teresa Cristina Caheté Mitchell**, com as quais aprendi e exercitei o sentido de duas frases: “A união faz a força!” e “Sucesso é dor!”.

A equipe do laboratório de Análise e Experimentação de Alimentos – LEAAL, pela presteza e apoio técnico-científico;

Às professoras, **Alda Verônica, Edleide Pires, Margarida Angélica, Marisilda Ribeiro, Silvana Salgado, e Zelyta Faro, Samara Alvachian, Nonete Barbosa Guerra** por todos os ensinamentos e por serem exemplos de profissionalismo;

A Prof^ª. **Tânia Stamford**, a quem serei eternamente grata, pelos incentivos, ensinamentos, conselhos e orientações científica, **OBRIGADA!**

Ao Prof^º. **Cristiano Ferraz** e seu Aluno **Carlos Raphael** pela produção da estatística deste trabalho, pela paciência e ensinamentos, **OBRIGADA!**

Aos profissionais da Central Analítica do Departamento de Química fundamental, pela acolhida e presteza em todos os meus momentos de dúvida;

A **Marianne Lima** pela presteza e auxílio na etapa experimental, **OBRIGADA!**

A **Rafael Padilha** do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA, pela liofilização do meu material, sempre atendendo aos meus pedidos;

A **Dr^a Maria do Carmo Santana**, responsável pelo laboratório de Plantas e Rações da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA e ao **Técnico Carlos**, pela atenção dada as análise de celulose, a presteza e contribuição científica, **OBRIGADA!**

Aos **AMIGOS** que são os irmãos que escolhemos para nossas vidas, **Vanessa, Marília, Helane, Hiram, Gustavo, Vitico, Rafael, Macelo, Natalie, Carolzinha, Lucianny, Anuska, Priscila, Jose, Maria** e tantos outros que contribuíram fundamentalmente na formação de meu caráter e conduta!

A **Neci**, Secretária da Pós-graduação, pelos conselhos e apoio nos momentos necessários!

A **CAPES** pela concessão da bolsa de incentivo a pesquisa;

E a **todos** que diretamente ou não contribuíram não só com este trabalho, mas com a transformação de uma aluna em pesquisadora, **OBRIGADA!**

*No fim tudo dá certo, se não
deu certo é porque ainda não
chegou ao fim.*

Fernando Sabino

SUMARIO

LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS	XII
RESUMO	XIII
ABSTRACT	XIV
1.0 INTRODUÇÃO	15
2.0 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Bioquímica do processo de maturação	18
2.2 Estrutura química da parede celular	24
2.2.1 Celulose e outros polissacarídeos pécticos	25
2.2.2 Interações entre os componentes da parede celular	29
2.3 Mudanças estruturais da parede celular durante o amadurecimento dos frutos	31
2.3.1 Degradação da hemicelulose	32
2.3.2 Despolimerização e desmetoxilação das pectinas	35
3.0 OBJETIVOS	41
3.1 Geral	41
3.2 Específicos	41
4.0 MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1 Local da experimentação	42
4.2 Amostragem dos frutos	43
4.3 Avaliação da firmeza, °Brix e pH	43
4.4 Determinação dos constituintes da parede celular	45
4.4.1 Extração e isolamento da pectina	45
4.4.2 Determinação do conteúdo de celulose e fibra detergente ácido (FDA)	47
4.5 Determinação dos diâmetros dos fragmentos de pectinas liofilizadas	49
4.6 Espectroscopia de infravermelho	49
4.6.1 Preparo das pastilhas de KBr	49
4.6.2 Determinação do grau de metoxilação	49

4.7 Delineamento experimental	50
4.8 Análise estatística	51
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 Resolução dos estádios de maturação do mamão papaya e formosa	52
5.2 Avaliação dos estádios de maturação quanto aos componentes estruturais da parede celular	55
5.2.1 Influência do estágio de maturação e cultivares sobre o pH, °Brix, conteúdo celulose e fibra detergente ácido	55
5.2.2 Influência do estágio de maturação e cultivares sobre o rendimento, grau de metoxilação e tamanho de partícula, das pectinas.	62
6.0 CONCLUSÕES	75
7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 01.	Estrutura da parede celular e das fibrilas da celulose.	25
Figura 02.	Estrutura básica da pectina.	27
Figura 03.	Modelo esquemático para representação da parede celular primária dos frutos.	30
Figura 04.	Representação esquemática dos eventos de despolimerização dos poliuronídeos e xiloglucanas da parede celular	40
Figura 05.	Preparação do fruto para avaliação da firmeza.	44
Figura 06.	Determinação da firmeza.	44
Figura 07.	Sinopse do processo de extração e isolamento das pectinas.	46
Figura 08.	Sinopse do processo para determinação de celulose e FDA.	48
Figura 09.	Avaliação do pH nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.	56
Figura 10.	Probabilidade normal dos contrastes para o pH.	57
Figura 11.	Avaliação do °Brix nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.	58
Figura 12.	Probabilidade normal dos contrastes para o °Brix.	58
Figura 13.	Avaliação do conteúdo de celulose nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.	60
Figura 14.	Probabilidade normal dos contrastes observados no conteúdo de celulose.	60
Figura 15.	Avaliação do conteúdo de FDA nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.	61
Figura 16.	Probabilidade normal dos contrastes observados no conteúdo de FDA.	61
Figura 17.	Microscopia eletrônica de varredura do isolado de pectina do mamão papaya verde.	63
Figura 18.	Microscopia eletrônica de varredura do isolado de pectina do mamão papaya maduro.	63
Figura 19.	Microscopia eletrônica de varredura do isolado de pectina do mamão formosa verde.	64

Figura 20.	Microscopia eletrônica de varredura do isolado de pectina do mamão formosa maduro.	64
Figura 21.	Avaliação do tamanho de partícula nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.	66
Figura 22.	Probabilidade normal dos contrastes do tamanho de partícula.	66
Figura 23.	Espectros de Infravermelho do mamão papaya.	68
Figura 24.	Espectros de Infravermelho do mamão formosa.	69
Figura 25.	Grau de metoxilação nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.	71
Figura 26.	Probabilidade normal dos contrastes do grau de metoxilação.	72
Figura 27.	Avaliação do rendimento nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.	74
Figura 28.	Probabilidade normal dos contrastes do rendimento.	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 01.	Codificação dos contrastes.	50
Tabela 02.	Classificação do mamão papaya com relação à maturação nos dois critérios de classificação.	53
Tabela 03.	Classificação do mamão formosa com relação à maturação nos dois critérios de classificação.	53
Tabela 04.	Avaliação dos contrastes das cultivares sobre os constituintes não pécnicos.	55
Tabela 05.	Avaliação dos contrastes das cultivares sobre os constituintes pécnicos.	62

RESUMO

As modificações pós-colheita afetam a estrutura da parede celular, composta de uma rede de hemicelulose ligada as microfibrilas de celulose, embebida em uma matriz de pectinas. As principais transformações bioquímicas envolvem ações distintas de enzimas que participam direta ou indiretamente do processo de degradação de componentes da parede celular, promovendo o amolecimento como consequência do amadurecimento dos frutos. O entendimento dos mecanismos envolvidos permanece inconcluso principalmente no que diz respeito aos componentes pécnicos. Este estudo objetivou avaliar a influência do processo de maturação através das mudanças na cor, firmeza, pH, °Brix, conteúdo de celulose e fibra detergente ácido (FDA), além de monitorar as principais transformações dos polissacarídeos pécnicos através da determinação de pectina, grau de metoxilação e diâmetro dos fragmentos. Tomou-se duas cultivares de mamão - papaya (*Carica papaya L*) e formosa (*Carica sp.*) - em três diferentes estádios de maturação (verde, de vez e maduro) para aplicar um ensaio fatorial 2 x 2, cujos dados foram interpretados segundo a estatística γ , para resolução do estádio de maturação e programa R, para demais variáveis, quando buscou-se interações específicas dos cultivares X estádio de maturação. Os frutos foram adquiridos no comércio local respeitando mesma procedência, seguidos a uma prévia padronização, e avaliados quanto à firmeza e cor. Subseqüentemente procedeu-se a extração de líquido para posterior determinação das variáveis dependentes diretamente relacionadas às substâncias pécnicas segundo metodologia descrita por Lima, (2007). A cor e a firmeza demonstraram um elevado grau de concordância, assumindo um coeficiente de correlação $\gamma=1$, assim ambos podem ser usados independentemente ou em conjunto para determinação do estádio de maturação. O pH e °Brix apresentaram valores próximos aos descritos na literatura coincidindo com os previstos para definição da maturidade do fruto. Mamão formosa apresentou aumento nos seus conteúdos de celulose e FDA durante as mudanças do estádio verde para o maduro, o que pode ter sido efeito da solubilização da hemicelulose quando comparados aos resultados obtidos para o mamão papaya. O tamanho dos fragmentos de pectinas diminuiu com a mudança do estádio verde para o maduro, contudo em mamão papaya esta mudança parece ser mais expressiva. O grau de metoxilação variou de 68,39 % para 60,60 % em mamão papaya e em mamão formosa de 68,16 para 66,56 % do estádio verde para o maduro. O percentual de pectinas permaneceu constante nos três estágios de maturação, demonstrando que o método pode ser usado na extração de protopectina (fruto verde) e ácido pectínico (fruto maduro).

Palavras-chave: parede celular, polissacarídeos pécnicos, cultivar, estádio de maturação.

ABSTRACT

Post harvest modifications affect the cell wall structure, composed by hemicelluloses net linked to cellulose's microfibrils in pectin's matrix. The main biochemical transformations involve distinct actions of enzymes which direct or indirectly participate on the degradation process of cell wall components promoting the softening as consequence of fruits ripening. The comprehension on the mechanisms involved in still unconcluded especially concerning pectin components. This study aimed to evaluate the influence of maturation process through the changes in color, firmness, pH, °Brix, cellulose content and acid detergent fiber (ADF), beyond monitoring the main pectin polysaccharides transformations through pectin determination, methoxylation level and fragments diameter. Papaya (*Carica papaya L*) and formosa (*Carica sp.*) cultivars – were taken at three different maturation stages (unripe, intermediate and ripen) to apply a 2 x 2 factorial assay which data were interpreted according to the γ statistics for maturation stage resolution and the R program for other variables when searching for specific interactions between cultivars and maturation stage. The fruits were acquired at the local market respecting the same precedence, followed by a previous standardizing, and evaluated concerning firmness and color. Subsequently, performed liquor to determine the dependent variables directly related to the pectin substances according to the method described by Lima (2007). Color and firmness demonstrated a high concordance level assuming a correlation coefficient $\gamma=1$, thus both of them may be used independently or together to determine the maturation stage. The pH and °Brix presented values close to those described in the literature coinciding to those predicted to fruit's maturation definition. The Formosa papaya presented a increase in its cellulose content and ADF during the change between green and ripened stages, which may have been an effect of hemicellulose's solubilization when compared to results obtained for the other type of papaya studied. The size of pectin fragments decreased with the change of green to ripened stage, however, for papaya this change seems to be more expressive. The degree of methoxylation varied between 68.39 % and 60.60 % for papaya and from 68.16 to 66.56 % Formosa in the changing from green to ripened stage. The pectin content maintained constant in three stages of maturation, showing this method be able to extraction of pectin in the protopectin (unripe stage) and pectinic acid (ripen stage).

Keywords: cell wall, pectin polysaccharides, cultivar, maturation stage,

1.0 Introdução

A origem da cultura do mamoeiro *Carica papaya* L. não é definida com precisão, sendo que a maioria dos pesquisadores considera que seu cultivo teve início na América do Sul, América Central ou no Sul do México, tendo daí se propagado por, praticamente, todas as regiões do mundo (MOURA & RESENDE, 1986).

Segundo a FAO (2003), o Brasil é o país que mais produz mamão em escala internacional, concentrando 31,6% da oferta mundial, seguido da Nigéria com 13,9%, México com 10,7% e Indonésia com 9,1%, sendo a produção brasileira neste período de um milhão e setecentas mil toneladas.

Quantitativamente as regiões Sudeste e Nordeste são as mais expressivas e juntas produzem 87,5% da produção nacional, destacando-se os estados do Espírito Santo e Bahia como os principais produtores (ONO et al., 2004). Particularmente no estado da Paraíba a cultura do mamão merece destaque, uma vez que a produtividade é de 47 t/ha, sendo superior às médias do nordeste, nacional e mundial que são 44, 45 e 17 t/ha, respectivamente (IBGE, 2002).

As cultivares mais exploradas no Brasil são a Solo (ex: 'Sunrise Solo' e 'Improved Sunrise Solo cv 72/12') mais conhecida como mamão *Havaí*, *Papaya* ou *Amazônia* e *Formosa* (ex: 'Tainung nº 1 nº 2'). (EMBRAPA, 2007).

O consumo de mamão pelos brasileiros vem aumentando, chegando a ser a terceira fruta mais consumida, porém, o consumo per capita alcança apenas 2 kg ano. O mamão *papaya* é mais consumido pela população de maior poder aquisitivo sendo destinado ao mercado interno e externo enquanto o mamão *formosa* é consumido exclusivamente pelo mercado interno (RAGONHA, 2005).

O mamão *papaya* assim como outros frutos tropicais possui compostos bioativos que tem um significativo papel na proteção contra danos celulares causados por exposição a radicais livres (vitamina E e C, carotenóides) e carboidratos estruturais, que ajudam no processo digestivo. (STEWART et al, 2001; MAHATTANATAWEE et al, 2006).

O processo de maturação inicia-se ainda na planta, entretanto os frutos do mamoeiro são colhidos após terem alcançado sua maturidade fisiológica, quando o desenvolvimento está completo e o crescimento cessa. É neste ponto que inicia o amadurecimento pós-colheita, e os frutos adquirem as características organolépticas para serem consumidos. A firmeza é considerada como o principal atributo de qualidade, e esta influencia na aceitabilidade do consumidor (HUBER et al, 2001).

O amolecimento é uma característica tipicamente associada à maturação, e tem como eventos à degradação da lamela média e perda de adesão celular. Nos frutos, os polissacarídeos pécticos são o principal constituinte da lamela média e sua degradação é um evento extremamente importante e sempre acompanhado de aumento da solubilidade e despolimerização (WAKABAYASHI et al, 2000a).

Os mecanismos que regem este processo em alguns aspectos permanecem obscuros e são alvos de muitas especulações, sabe-se que pectina, hemicelulose e a celulose são modificadas durante o amadurecimento, contudo o tempo, a ordem e a extensão destas alterações variam amplamente entre os frutos (HUBER et al, 2001; ALI et al, 2004).

Embora a perda de turgência, degradação do amido e a subsequente diminuição no seu conteúdo possam contribuir com o amadurecimento e mudança na textura dos frutos, está claro que as maiores modificações envolvendo os componentes polissacarídeos são resultado das ações das enzimas hidrolíticas que aceleram a

separação e diferenciação das estruturas da parede celular primária e da lamela média (ALI et al, 2004).

Entre estas enzimas podem-se mencionar as pectinolíticas incluindo aquelas que catalizam a quebra hidrolítica dos ácidos poligalacturônico (endo-poligalacturonase; EC 3.2.1.15 e/ou exo-PG; EC 3.2.1.67) em cadeias de polímeros de galacturônico, as pectinametiliesterase (PMG; EC 3.1.11), que remove os resíduos esterificados ou metilados dos ácidos galacturônicos, e ainda a pectatoliase (PL; EC. 4.2.2.2) que atua sobre os ácidos péticos aleatoriamente através de reações de β -eliminação. As enzimas que atuam sobre a hemicelulose e celulose como a β -1,4-glucanase e mais recentemente catalogada XET: xiloglucana endotransglicosilase e a celulase (EC 3.2.1.4). E ainda outras envolvidas com a degradação de lipídeos (fosfolipases C e D, lipoxigenases) e proteína não enzimática (expansina) (JAYANI et al, 2005; MACLACHLAN & BRADY, 1994; KARAKURT & HUBER, 2003; BAUMANN, et al, 2007).

Considerando os aspectos econômicos e relevância nutricional, o mamão pode ser considerado um modelo útil para o estudo dos processos de maturação. Este exhibe mudanças texturais visíveis que podem facilmente ser detectadas durante o período de amadurecimento (PALL et al; 1999). Contudo muitos aspectos que envolvem os mecanismos de maturação e desarrançamento dos constituintes da parede celular permanecem pouco esclarecidos.

O presente estudo propõe-se investigar as modificações pós-colheita que ocorrem nos frutos do mamoeiro e fornecer elementos que elucidem os mecanismos do amadurecimento por determinação das mudanças na quantidade e composição dos componentes da parede celular, principalmente nas pectinas e seu grau de metoxilação.

2.0 Revisão da Literatura

2.1 Bioquímica do processo de maturação

Por definição anatômica, entende-se fruto como sendo o ovário (ou carpelo) maduro e suas paredes o pericarpo. Durante a sua maturação podem estar envolvidas ou não outras partes florais, no caso dos frutos carnosos o desenvolvimento de seus tecidos inclui componentes florais extra-carpelares e podem ser chamados de frutos acessórios. (GILLASPY, et al, 1993; GIOVANNONI, 2004; RAVEN et al, 2001).

Frutos carnosos sofrem um processo de amadurecimento no qual a bioquímica, fisiologia e estrutura dos órgãos são transformadas, influenciando na aparência, firmeza, e aroma. Embora a programação bioquímica seja específica a cada espécie, tipicamente ocorrem: modificação da cor por meio de alterações na clorofila, carotenóides e/ou acumulação de flavonóides; modificações no perfil dos açúcares, ácidos e componentes voláteis; modificação na firmeza via alterações na turgência das células com reestruturação da parede celular e aumento da suscetibilidade a patógenos oportunistas, comumente associados à perda da integridade celular (GIOVANNONI, 2004; VILLANUEVA et al, 2004).

Classicamente os frutos são agrupados de acordo com suas respostas hormonais. O etileno é o hormônio ao qual os frutos climatéricos respondem, ele é produzido ainda no fruto verde e tem sua síntese aumentada durante o amadurecimento por uma reação autocatalítica que leva ao aumento das taxas respiratórias, sua biosíntese influencia as rotas metabólicas das transformações dos carotenóides e produção de aromas. Enquanto os frutos não-climatéricos teoricamente amadurecem sem que o etileno tenha algum

efeito significativo, contudo nestes frutos o hormônio auxina pode levar a síntese basal de etileno (TAIZ & ZEIGER, 2006; BLEECKER & KENDER, 2000).

O mamão é um fruto tipicamente climatérico, cujas características são de aumento da taxa respiratória, produção autocatalítica de etileno e alterações organolépticas durante o seu amadurecimento, tais como cor, sabor, amolecimento da polpa e produção de compostos voláteis aromáticos (PEREIRA et al, 2006).

As mudanças no perfil da coloração do fruto ocorrem tanto na casca como na polpa. A cor verde dos frutos se deve a presença das clorofilas *a* e *b*, que são anéis de porfirina responsáveis pelas transformações da luz em energia bioquímica. Durante a senescência ocorre a quebra destes anéis devido principalmente as mudanças de pH apoplástico e ação da clorofilase (EC 3.1.1.14), sendo a perda de sua fluorescência um indicador do estágio de maturação (AWAD, 1993).

Bron et al, (2004) avaliaram a fluorescência da clorofila do mamão papaya, com o uso de um fluorômetro, em três diferentes estádios de maturação, e constataram que há uma perda na eficiência do processo de transferência de energia entre os cloroplastos em frutos maduros, com uma conseqüente perda de atividade fotossintética. Este efeito foi diretamente correlacionado com as mudanças de cor e perda de firmeza, o que indica sua possível aplicabilidade como uma ferramenta não destrutiva em estudos de pós-colheita.

A cor da casca é comumente utilizada como critério para avaliação do estágio de maturação, principalmente nos ambientes comerciais devido à necessidade da rápida avaliação (OLIVEIRA et al, 2002). No Brasil a portaria nº 348/2006 do Ministério da Agricultura classificou o mamão papaya tipo exportação com relação ao seu estágio de maturação em seis categorias: Estágio 0 - (Verde) Fruto crescido desenvolvido, com casca 100% verde; Estágio 1 - (Amadurecendo) a cor amarela não cobre mais de 15%

da superfície da casca; Estágio 2 - (1/4 madura) Fruto com até 25% da superfície da casca amarela; Estágio 3 - (1/2 madura) Fruto com até 50% da superfície da casca amarela; Estágio 4 - (3/4 madura) Fruto com 50-75% da superfície amarela; Estágio 5 - (madura) Fruto com 76-100% da superfície da casca amarela.

Adicionalmente, a firmeza do fruto (analisada através da força) vem sendo utilizada conjuntamente com a cor da casca na avaliação dos estádios de maturação. Manrique e Lajolo (2004) classificaram o mamão papaya (estudado sobre atmosfera e umidade controladas) em cinco estádios de maturação: verde escuro $\pm 95.35\text{N}$; verde $\pm 84.97\text{N}$; verde amarelado $\pm 50.67\text{N}$; amarelo esverdeado $\pm 19.99\text{N}$ e amarelo $\pm 9.60\text{N}$.

A degradação da clorofila acompanha as mudanças no perfil de carotenóides que dão a cor amarelo-avermelhada na maioria dos frutos maduros. Em alguns casos ocorre a transformação dos cloroplastos em cromoplastos, em outros a sua destruição faz revelar a presença dos carotenóides (RODRIGUES-AMAYA, 1997).

A análise da composição dos carotenóides do mamão papaya (*Carica-papaya* L) cv Sunrise, em diferentes estádios de maturação, demonstrou que não há diferenças no perfil dos carotenóides nos três estádios avaliados (verde, amarelo e laranja) e que o licopeno (63,5%) contribuiu substancialmente com a mudança da cor da polpa com substancial aumento da sua concentração em comparação com os outros tipos de pigmento. Os outros dois mais importantes foram a criptoxantina (19,2%) e o β -caroteno (4,8%) (GOUADO et al, 2007; CANO et al, 1996).

A glicose e a frutose são os açúcares presentes em maior quantidade nos estágios iniciais do amadurecimento, devido à alta atividade da invertase sobre a sacarose. Contudo depois da antese (momento da abertura das flores, o que marca o início do ciclo reprodutivo) quando as sementes do fruto e a polpa começam a mudar de cor, ocorre uma drástica mudança no conteúdo de açúcar, a sacarose começa a se acumular

devido à diminuição ou total inibição da atividade da invertase, predominando no fruto maduro (VILLANUEVA et al, 2004).

Além das alterações no perfil dos monossacarídeos, o ácido cítrico e málico são os encontrados em maior abundância nos frutos tropicais, contudo Arriola et al (1976) revelaram que para o mamão o ácido orgânico predominante é o ácido cítrico; e o seu teor diminui com a maturação.

Os compostos voláteis dos frutos são, também, bastante influenciados pelo processo de maturação. Em mamão papaya (cv. Solo) o aroma mais intensamente ativo durante um estudo de estocagem foi o linalol (um monoterpene de fragrância doce e floral) e o benzenometanol (hidrocarboneto de fragrância amêndoadada) (MOHAMMED et al, 2001). Almora et al (2004) encontraram na variedade Maradol roja a presença de butanol, 3-metilbutanol, benzil álcool e α -terpineol como produtos voláteis característicos do ponto máximo de maturação (pH 5,5; °Brix 9,6 e firmeza 1,2 Kgf).

Para um melhor entendimento Jayani et al, (2005) classificou as enzimas pectinolíticas em três grupos, a saber: 1- Protopectinases: degradam as protopectinas insolúveis e aumentam a solubilização dos polímeros de pectina; 2- Esterases: catalisam a desesterificação de pectinas por remoção dos ésteres de metoxil; 3- Depolimerases: catalisam a hidrólise das ligações glicosídicas α -(1→4) do ácido D-galacturônico.

Esta última pode ser subdividida em quatro categorias dependendo da preferência das enzimas sob o substrato, mecanismo de clivagem e local de quebra da ligação glicosídica. Assim a poligalacturonase e polimetilgalacturonase quebram pectatos em pectinas ambos por mecanismos de hidrólise. Entretanto poligalacturonase liase e polimetilgalacturonase liase quebram pectatos em pectinas por β -eliminação e dependendo do padrão de ação, aleatório ou terminal, estas enzimas são terminalizadas como endo- ou exo-, respectivamente (JAYANI et al, 2005).

Além das pectinolíticas, a celulolítica provoca a despolimerização e certa desorganização das microfibrilas de celulose além de atuar sobre as interações via pontes de hidrogênio da hemicelulose-celulose. Outras enzimas recém catalogadas são as XET que atuam exclusivamente sob as ligações β -(1 \rightarrow 4) da hemicelulose, e a β -galactosidase (EC 3.2.1.23), que em uma variedade de frutos foi reportada por possuir atividade de β -galactanase, funcionando possivelmente como uma exo-glucanase. (MACLACHLAN & BRADY, 1994; LAZAN et al, 2004; BAUMANN et al, 2007).

A ação da poligalacturonase liase vem ganhando destaque em frutos onde a atividade da poligalacturonase hidrolase é menos intensa. Atuando através de reações de β -eliminação na clivagem de pectinas desesterificada, sendo fundamental no processo amadurecimento de frutos como framboesa e maçã (MARÍN-RODRÍGUEZ, 2002).

Em paralelo a ação das hidrolases tradicionais, surge também uma enzima que catalisa a hidrólise de cadeias de galactose (α -galactosidase (EC 3.2.1.22)) dos oligossacarídeos que ocorrem como rafinose ou α -galactosídeos como galactolipídeos ou galactoproteínas, podendo atuar nas ligações cruzadas entre os oligossacarídeos pectícos e hemicelulose (SOH et al, 2006).

Adicionalmente, outras enzimas envolvidas no processo de maturação são as lipoxigenases, e fosfolipases C e D. A primeira tem sua presença marcadamente notada no período da senescência, e sua atividade resultada na liberação dos lipídeos insaturados que constituem as membranas, que podem servir como substrato para as fosfolipases. Sua atividade pode ter dois efeitos: um positivo por estar envolvida na produção de moléculas sinalizadoras de defesa e um negativo pela participação nas reações auto catalíticas de peroxidação, uma vez que os peróxidos contribuem na inativação da síntese de proteínas e deterioração da membrana celular (KARAKURT & HUBER, 2003).

Não menos importante, a expansina assume um papel nos mecanismo não-hidrolítico de desagregação dos constituintes da parede celular, ela atua aumentando a acessibilidade das enzimas hidrolíticas aos polissacarídeos através de mecanismos de expansão da parede celular (LI et al, 2003).

Assim, entende-se o amadurecimento como um processo catabólico dependente de energia que é fornecida através da respiração, a qual tem como substrato majoritário açúcares e ácidos orgânicos dos frutos. Para que este ocorra é necessário a síntese de RNAm e novas proteínas, enzimas, bem como novos pigmentos e compostos aromáticos (TAIZ et al, 2006).

Entretanto, os fatores que controlam a hidrólise *in vivo* não têm sido totalmente estudados, sabe-se que o metabolismo da parede celular envolve estádios iniciais de síntese, relaxamento e degradação dos componentes, contudo a ordem e a extensão dos processos de despolimerização variam enormemente entre os tecidos e espécies de frutos, uma vez que as estruturas químicas da parede celular sofrem influência das condições de clima, solo e cultivar (HUBER et al, 2001).

2.2 Estrutura química da parede celular

A presença de parede celular é uma característica das células vegetais, que se desenvolve em camadas depositadas durante o seu crescimento e senescência. A célula vegetal apresenta parede primária e secundária (figura 01), e uma lamela média, rica em pectato de cálcio, presente na junção das paredes de células vizinhas. A parede celular primária é formada na fase de crescimento, sendo considerada não-especializada. Enquanto a parede celular secundária forma-se após cessar o crescimento celular, e pode se tornar uma estrutura altamente especializada dependendo de sua localização (TAIZ & ZEIGER, 2006).

A parede celular é essencial na maioria dos processos de crescimento, desenvolvimento, manutenção e reprodução. Sendo responsável por: resistência mecânica das estruturas vegetais; promove a junção das células; atua como exoesqueleto, controlando a forma e permitindo altas pressões de turgência; e ainda protege contra agressões físicas e químicas (RAVEN et al, 2001).

Os constituintes da parede celular primária e da lamela média podem ser classificados em vários tipos de moléculas poliméricas, a saber: polissacarídeos pécicos, celulose, hemicelulose e proteínas, os quais variam em conteúdo e estrutura química dependendo da espécie e do estágio de desenvolvimento (WAKABAYASHI, 2000a; BROWNLEADER, et al., 1999).

2.2.1 Celulose e outros polissacarídeos pécnicos

A celulose é o carboidrato mais abundante na natureza, estando presente em quantidades de 20-40% da matéria seca de todas as plantas superiores. É insolúvel em água e constituído por cadeias lineares que contêm três a cinco mil resíduos de D-glicose unidos por ligações β -(1 \rightarrow 4), que constitui o arcabouço esquelético que oferece suporte as outras moléculas da parede celular primária. Pode ser encontrada nas formas amorfa e cristalina – livre de lignina e hemicelulose. Devido a sua linearidade e a sua natureza estereoregular, as moléculas de celulose se associam entre si formando grandes fibras de policristalinos chamadas de microfibrilas, que são unidas através de pontes de hidrogênio intra e intermoleculares (VAN SOEST, 1982; ALBERT, 1983).

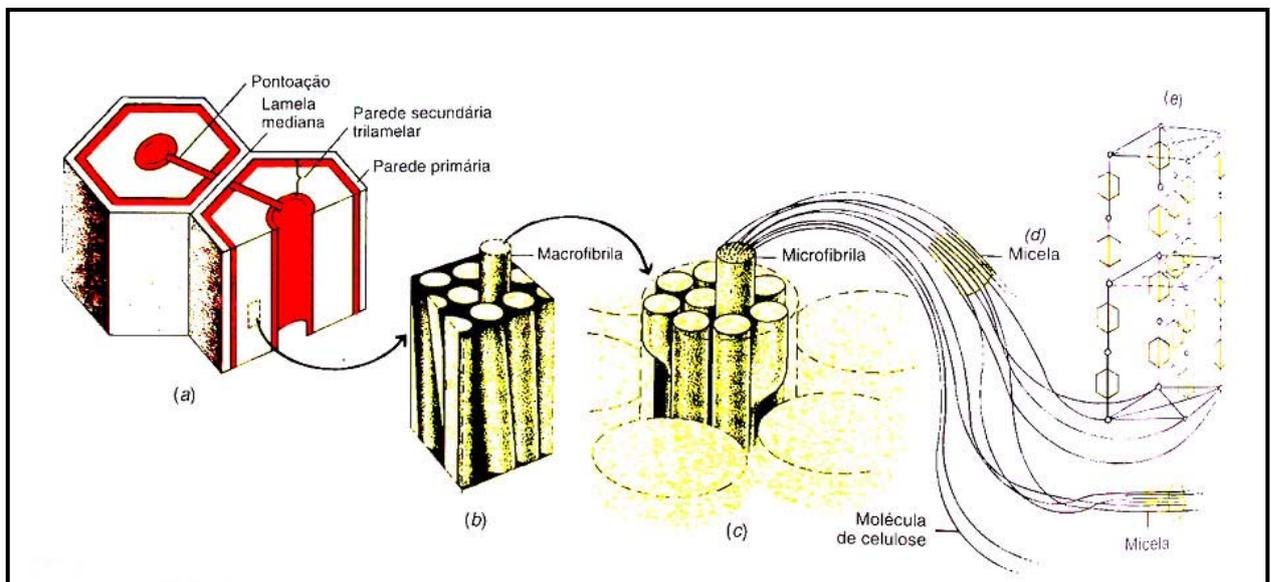


Figura 01: Estrutura da parede celular e das fibrilas da celulose.
Fonte: <http://professores.unisanta.br/maramagenta/celulavegetal.asp>

Estas microfibrilas estão circundadas por um número menor de cadeias de celulose e por moléculas de hemicelulose. As microfibrilas são compostas por aproximadamente 20 micelas. As micelas contêm em média 100 cadeias moleculares de celulose. A organização das microfibrilas segue um arranjo pouco ordenado na parede celular primária, sendo frequentemente transversal ao eixo celular e longitudinal aos vértices celulares. Com o envelhecimento celular ocorre a formação das camadas da parede secundária, que confere rigidez a célula, e ainda promove um arranjo definido nas microfibrilas (TAIZ et al, 2006).

A hemicelulose é constituída principalmente de xiloglucanas e contribuem com aproximadamente 20-25% dos constituintes da parede celular primária. Em geral, as xiloglucanas estão ligadas a microfibrilas de celulose, pectinas e lignina através de pontes de hidrogênio formando ligações cruzadas que estabilizam a parede celular (WAKABAYASHI, 2000 a). Seu esqueleto de açúcares neutros é constituído por ligações β -(1→4) e os resíduos de glicose que podem ser substituídos por resíduos de xilose via ligações α -(1→6). O comprimento estimado desta cadeia é de 400-600 nm (BROWNLEADER, et al., 1999, BAUMANN et al, 2007).

Em meio acidificado com ácido acético em refrigeração a hemicelulose pode ser sub-fracionada em hemicelulose A, que é precipitada, e hemicelulose B que permanece em solução. A primeira é composta primordialmente por cadeias de xiloglucanas e a segunda contem ramificações de arabinose e ácido urônico (VAN SOEST, 1982).

Pectinas ou poliuronídeos são geralmente considerados polissacarídeos ricos em ácido galacturônico que ocorrem na lamela média e em outras membranas, enquanto a hemicelulose é uma fração mais complexa da parede celular primária. A distinção entre pectina e hemicelulose ainda não é bem definida devido às dificuldades de classificação

por solubilidade, assim alguns químicos preferem classificá-las como componentes não-celulósicos da parede celular (VAN SOEST, 1982).

De um modo geral, as pectinas são constituídas por polímeros lineares de ligações α -(1 \rightarrow 4) de ácido galacturônico (aproximadamente 65% da cadeia-domínio homogalacturonana) e resíduos de ramnogalacturonanas I e II, que consistem de unidades de ácido galacturônico alternadas com unidades específicas de ramnose [\rightarrow 4)- α -D-GalA-(1 \rightarrow 2)- α -L-Rha-(\rightarrow)]. Nesta região ocorre perda da linearidade, devido a leves dobraduras da cadeia principal. Ainda os resíduos de ramnose carregam outros açúcares como D-galactose, D-arabinose, D-fucose, 2-O-metilfulcose, D-apiose e outros que variam em proporções dependendo da sua fonte (Figura 02) (MESBAHI et al, 2005; WILLATS et al, 2005; BROWNLEADER et al., 1999).

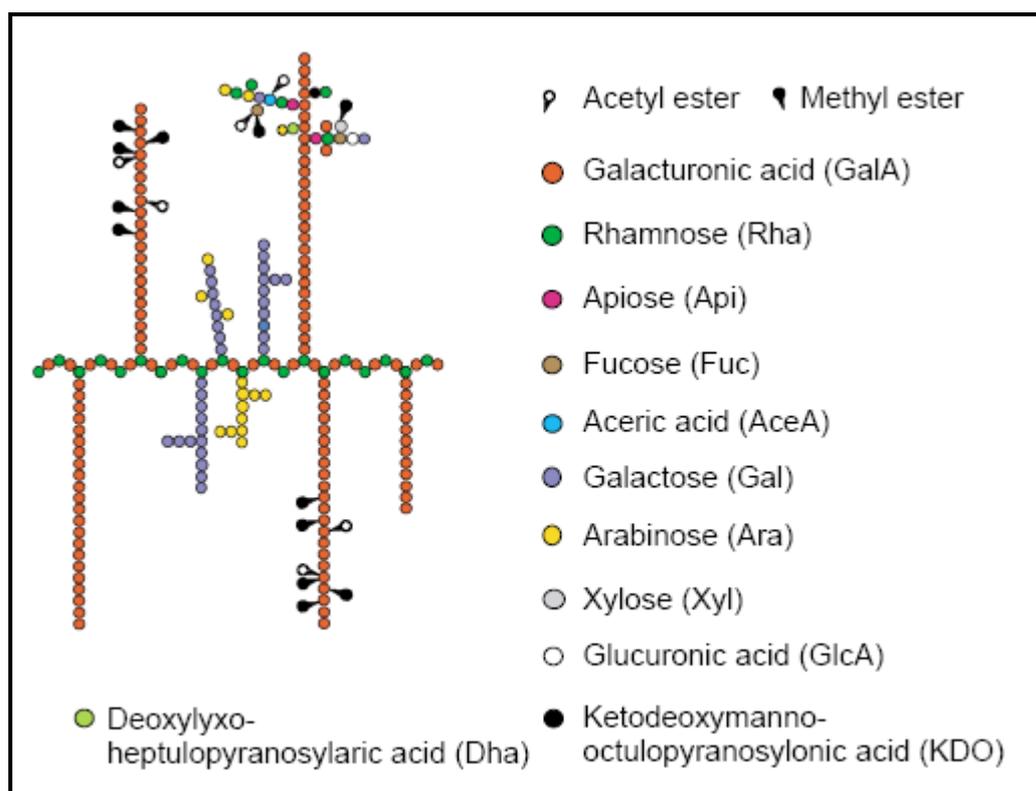


Figura 02: Estrutura básica da pectina. Os polímeros da imagem visam demonstrar os principais domínios encontrados nas pectinas.

Fonte: Willats et al, 2006.

Contudo nos frutos verdes a pectina se apresenta na forma de protopectina, a qual é insolúvel em água e sob limitada hidrólise por protopectinases, rende pectinas e ácido pécticos (JAYANI et al, 2005).

Estruturalmente, as pectinas que participam da constituição da parede celular primária diferem das presentes na lamela média. Na primeira as cadeias de ramnogalaturonana encontram-se altamente ramificada, com longas cadeias de arabinose e galactose ou arabinogalactose. Na segunda as cadeias de ramnogalaturonana apresentam-se ligeiramente ramificadas, com cadeias curtas de arabinose e galactose ou arabinogalactose, contudo os ácidos galacturônicos da cadeia linear encontram-se altamente esterificados apresentando complexos de ligações com cálcio (MANRIQUE & LAJOLO, 2004; BROWNLEADER et al., 1999).

Além de pectina e hemicelulose, em menor proporção encontram-se os componentes fenólicos, representado principalmente pelo ácido ferúlico, o qual freqüentemente está esterificado com resíduos de arabinose e galactose. E glicoproteínas do grupo das hidroxiprolinas, a extensina, a qual se distribui uniformemente na parede celular, não ocorrendo na lamela média. É insolúvel e assume papel na manutenção da integridade físico-química da parede celular (JACKMAN & STANLEY, 1995).

Estudos sobre a evolução dos constituintes da parede celular indicam que entre os compostos químicos mais conservados estão a presença da rede de celulose, a presença de certa hemicelulose como xiloglucanas, e a presença de ramnogalacturonana II como um domínio dos polissacarídeos péctico. Entre as características mais modificadas estão a abundância de manose nas cadeias de hemicelulose e a presença de açúcares metilados, o que demonstra um processo de especialização e fortalecimento das interações químicas (NOTHNAGEL & NOTHNAGEL, 2007)

2.2.2 Interações entre os componentes da parede celular

Embora seja difícil estruturar um modelo preciso para a parede celular primária (figura 03), pois este deve refletir as interações entre os diversos componentes, Albersheim et al, em 1973 propôs uma arquitetura da parede celular que vem sendo bastante aceita nos últimos anos (RIDLEY et al, 2001; CAPITA & GIBEAUT, 1993; BROWNLEADER et al., 1999)

É aceito que na parede celular primária existam duas fases entrelaçadas: uma fase microfibrilar insolúvel de celulose que confere sustentação formando sua principal estrutura, onde estão incorporados outros elementos como proteínas (extensina) e glicoproteínas, e uma fase de polímeros não celulósicos que consiste de polissacarídeo (pectinas e xiloglucanas), os quais circundam e embebem o domínio microfibrilar (CAPITAN & GIBEAUT, 1993; BROWNLEADER et al., 1999).

As interações entre os componentes podem ser categorizadas em não covalentes e covalentes, e uma rede tridimensional, combinação das duas fases, é capaz de reter água na forma de gel via interações entre as zonas de junção das cadeias de polissacarídeos interespecíficas com regiões dissociadas. Ligações intermoleculares de pontes de hidrogênio e forças iônicas estabilizam estes fatores (RIDLEY et al, 2001; LOFGREN & HERMANSSON, 2007).

As abundantes zonas de junção, dependendo da composição dos monossacarídeos ou polissacarídeos, seqüências de ligação e comprimento da cadeia, permitem a formação de uma estrutura que é frágil, mas ao mesmo tempo elástica, com firmeza de gel. As regiões de celulose da parede celular são potencialmente capazes de associações inter-cadeia via pontes de hidrogênio. As associações das xiloglucanas e

arabinoxilanas com as regiões de celulose também contribuem no controle dinâmico dos movimentos da parede celular e na firmeza (LAZAN, et al, 2004; BROWNLEADER et al., 1999).

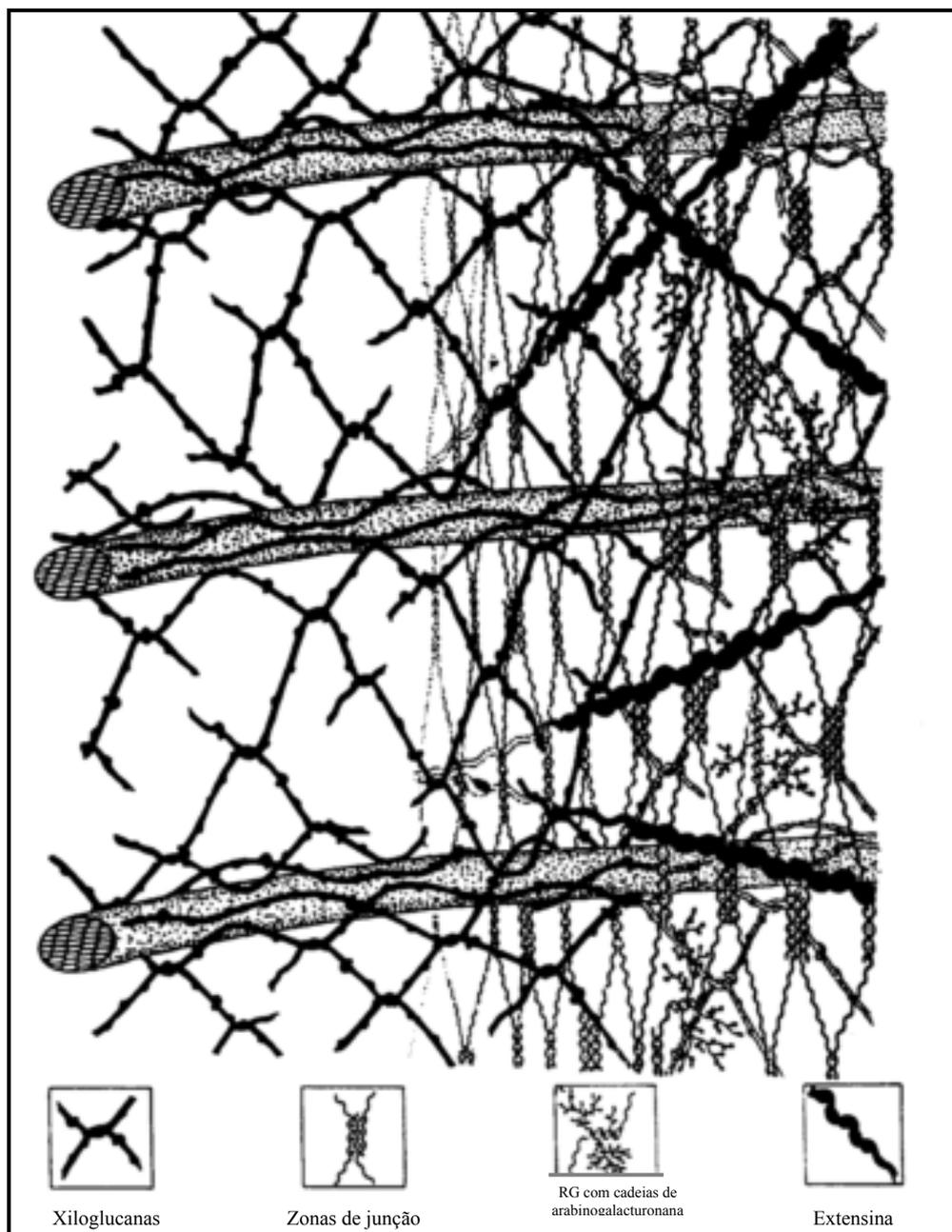


Figura 03: Modelo esquemático para representação da parede celular primária dos frutos.
Fonte: Jackman & Stanley, 1995.

Durante o crescimento, as células se expandem deformando a parede, que ainda retém sua conformação resistindo às pressões de turgência. As microfibrilas de celulose são depositadas em uma orientação direta com a rede de hemicelulose, a qual é enzimaticamente clivada, levando ao afrouxamento da parede de forma a permitir as interações celulose-hemicelulose. Os polissacarídeos não celulósicos, na qual está embebida a matriz microfibrilar, ordenam o grau de relaxamento durante a extensão, neste momento as ligações químicas ou associações são quebradas, e o relaxamento resulta na diminuição da pressão de turgência que é seguida por absorção de água (JACKMAN & STANLEY, 1995).

Esse modelo que descreve a arquitetura da parede celular é concordante com o seu crescimento e foi elucidado através de investigações sobre os mecanismos de expansão. Ele pode facilitar o entendimento e o estudo das relações entre estrutura e firmeza dos frutos, mas ainda é considerado incompleto, já que pouco descreve a atuação da lignina no processo de distensão (JACKMAN & STANLEY, 1995; BROWNLEADER et al., 1999).

2.3 Mudanças estruturais da parede celular durante o amadurecimento dos frutos

O amadurecimento é o passo inicial para a senescência dos frutos, sendo considerado um processo coordenado e geneticamente programado. Este é acompanhado de várias transições bioquímicas, como síntese de pigmentos, produção de voláteis e amolecimento dos tecidos, produzindo modificações na estrutura da parede celular, particularmente na degradação de polímeros (SEYMOUR et al, 1993; WAKABAYASHI, 2000a; HUBER et al, 2001; LAZAN et al, 2004).

A firmeza é considerada um dos principais atributos de qualidade no produto final, e o estudo dos eventos moleculares responsáveis pela sua mudança nos frutos demonstram que estes poderiam exercer um efeito cooperativo sobre outros atributos sensoriais como aroma, cor, sabor. Pode ainda influenciar na aceitabilidade, vida-de-prateleira, capacidade de transporte e resistência ao cisalhamento e ao ataque por insetos, bactérias e fungos (SEYMOUR et al, 2002; MANRIQUE & LAJOLO, 2004).

Inúmeros trabalhos têm se dedicado a elucidar os mecanismos responsáveis pelas mudanças na firmeza que ocorrem durante o pós-colheita. Até o momento acredita-se que estas alterações são conseqüências das modificações dos polissacarídeos das paredes celulares principalmente na pectina e na hemicelulose. A pectina, durante o amadurecimento, sofre solubilização, despolimerização e desmetoxilação, assim como a celulose e a hemicelulose são susceptíveis a hidrólise química e/ou enzimática com subsequente produção de oligossacarídeos de diferentes tamanhos e composição (PAULL et al, 1999; MANRIQUE & LAJOLO, 2002; SHIGA et al; 2002; ALI et al, 2004; YASHODA et al, 2005).

2.3.1 Degradação da hemicelulose

Nos frutos verdes as moléculas de hemicelulose são grandes polímeros de massa molecular que varia de 100-1000 kDa, o que indica que a parede celular dos frutos tem significativa quantidade de xiloglucanas e sua despolimerização e diminuição de tamanho têm sido associada com a atuação das hidrolases (JACKMAN & STANLEY, 1995).

Poucos estudos recentes têm se dedicado em avaliar a extensão da degradação das xiloglucanas durante o amadurecimento, e têm sido demonstrados que estas sofrem substancial despolimerização na maioria dos frutos (YASHODA et al, 2005).

Modificações na estrutura da hemicelulose associadas ao amadurecimento tem sido documentadas para o tomate (MACLACHLAN & BRADY, 1994), mamão papaya (PALL et al, 1999), maçã (PERCY et al, 1997), abacate (WAKABAYASHI et al, 2000b), carambola (CHIN et al, 1999).

Contudo este processo não é igual para todos os frutos, segundo Ali et al, (2004) que comparou a degradação da parede celular de frutos tropicais, e verificou que o processo de despolimerização e diminuição da quantidade de xiloglucanas pode ocorrer durante todo o processo de amadurecimento do fruto ou nos estágios iniciais, ou em ambos.

Por exemplo, para o tomate, a despolimerização da molécula e diminuição da quantidade ocorreu durante todo processo de amadurecimento, já no melão (VILLANUEVA et al, 2004) ocorre apenas à despolimerização e esta, nos estágios iniciais do amadurecimento e na carambola e mamão papaya (CHIN et al, 1999), a desorganização da pectina parece anteceder as modificações da hemicelulose.

Outro fator importante é a influência da degradação da hemicelulose sobre o processo de amolecimento do fruto e a conseqüente despolimerização das pectinas. Dellapenna et al, (1990) demonstrou que em tomates mutantes com o gene silenciado para o amadurecimento (*rin*) - o qual leva a produção apenas de 10% da enzima poligalacturonase (PG), - quando restaurada a atividade normal da PG, os tomates demonstravam degradação das pectinas sem contudo amolecer, evidenciando que outros processos estavam envolvidos no amaciamento do fruto, já que as xiloglucanas de frutos silvestres diminuía durante o amadurecimento diferindo em relação e as do fruto *rin*.

Assim está claro que o amadurecimento dos frutos é dependente da atuação das enzimas que despolimerizam a hemicelulose. Neste contexto as endo-glucanases como a (1→4)-β-glucanases (EC 3.2.1.4) e a β-galactosidase com atividade de β-galactanase (esta última tem capacidade de modificar simultaneamente pectinas e hemicelulose) atuam diretamente na despolimerização das xiloglucanas, embora seus níveis de atividade variem marcadamente entre os tipos de frutos (ALI et al, 2004).

Em mamão papaya a β-galactosidase apresenta três diferentes isoformas, as quais demonstram ter capacidade para diferencialmente modificar pectina e hemicelulose *in vitro*. Estas modificações ocorreram em aparente ausência de atividade da PG, e PME e outras importantes glicosidases e glucanases, como α-galactosidase e a xilanase (LAZAN et al, 2004).

Recentemente, em estudos sobre o metabolismo enzimático do processo de maturação, tem-se destacado que a endotransglicosilação tem como enzima responsável a proteína XET, esta tem sido purificada de uma variedade de frutos e possui ambas as atividades de hidrolase e transglicosilase, em alguns casos, é necessário um oligossacarídeo de xiloglucana para estimular a atividade da XET, porém em outros, independe da presença de xiloglucanas (SCHRODER et al, 1998).

Sua ação envolve processos de modificação da parede celular através de síntese e degradação de compostos, a XET catalisa a quebra intramolecular de polímeros de xiloglucanas, permitindo a expansão da célula sem danificar sua estrutura provavelmente por adição de novos polímeros de xiloglucanas em locais específicos (BAUMANN et al, 2007).

2.3.2 Despolimerização e desmetoxilação das pectinas

Os polissacarídeos pécticos são os principais constituintes da lamela média e assim sua degradação é um dos eventos mais notáveis do amadurecimento e amolecimento dos frutos. O aumento da solubilidade e despolimerização da pectina tem sido observado durante o amadurecimento da maioria dos frutos (ALI et al, 2004; PALL et al; 1999; MANRIQUE & LAJOLO, 2004; WAKABAYASHI et al, 2000a). Não existe um padrão para os processos de degradação, podendo influenciar na firmeza de forma distinta durante o amadurecimento (YASHODA, et al; 2005).

Com o processo de maturação ocorre um aumento das pectinas solúveis, ácidos pécticos e pectato de cálcio, o qual é normalmente acompanhado da diminuição da protopectina, indicando que as pectinas solubilizadas são originadas de polímeros mais firmemente integrados a parede celular e possivelmente também a hemicelulose. O aumento na solubilização e despolimerização é geralmente correlacionado com a diminuição da firmeza do tecido e conseqüentemente considerado parte importante do processo de maturação (WAKABAYASHI, 2000a).

A solubilização das protopectinas ocorre pela ação as protopectinases, já as poligalacturonases - PG são consideradas elementos chave na despolimerização da maioria dos frutos. Elas atuam clivando as ligações endo- e exo- α -(1→4) dos ácidos galacturônicos, e sua atividade aumenta significativamente durante o amadurecimento levando a diminuição de tamanho e massa molecular das pectinas e ácido pécticos (PALL et al, 1999; HUBER et al 2001).

As PGs assumem isoformas diferenciadas de acordo com o tipo de fruto. No abacate (WAKABAYASHI et al, 2000b) ela se apresenta com duas subunidades, uma

de 46 kD e a outra com 48 kD , já no tomate (HUBER et al 2001) PG é conhecida como PG2A (43kD) e PG2B (46kD). Estas exibem uma atividade máxima em pH 5.5-6.0 e 4.5 respectivamente. A PG obtida de tomate tem atividade específica para as cadeias de ácido poligalacturônico seis vezes maior que a de abacate sendo também quatro vezes mais ativa na liberação de unidades de ácido urônico da parede celular dos frutos (HUBER et al 2001).

Inicialmente a maioria dos trabalhos procurou focar o amadurecimento do tomate, no qual ocorre uma acentuada atividade da PG especificamente a endo-PG a que tem poder de solubilização da maior parte das pectinas, e assim passou-se a considerar que esta seria a principal enzima responsável pelo amolecimento. Entretanto experimentos com frutos transgênicos nos quais o acúmulo de RNAm da PG foi suprimido ainda ocorria o amolecimento dos frutos. Em outros frutos como maçã (GOULAO et al, 2007) e framboesa (STEWART et al, 2001) a atividade da PG é menor ou ausente, e mesmo assim é verificado a solubilização e degradação das pectinas (MARÍN-RODRÍGUEZ et al, 2002).

Em experimentos que utilizam a PG purificada de frutos como abacate (WAKABAYASHI et al, 2000b) tomate (DELLAPENNA et al, 1990) mamão (ALI et al, 2004), tem se verificado que as pectinas libertadas por PG purificada têm maior massa molecular que as pectinas de frutos que amadurecem naturalmente, indicando que a formação de polímeros de baixo peso molecular é dependente da atuação de outras enzimas, mesmo os frutos em estágio intermediário de amadurecimento são resistentes à ação isolada da PG purificada.

Pectinametilesterase - PME de papaya consiste de dois componentes (PME I e PME II) as quais tem sido consideradas isoenzimas. Ambas atuam em pH ótimo 8,0 a

35°C e são ativadas por cátions, contudo o mais efetivo são os cátions divalentes como Mg^{2+} (LIM & CHUNG, 1993).

Tem se mencionado (WAKABAYASHI et al, 2003) que a metil-esterificação pode impedir a degradação das pectinas mediada por PG na parede celular de alguns frutos e que uma parcial desesterificação por PME é necessária para que a PG possa realizar uma contínua despolimerização. Portanto o grau de metilesterificação das pectinas pode ser um fator de regulação do processo de maturação (WAKABAYASHI, 2000a; JIANG et al, 2003).

A existência de frutos que mantém sua polpa endurecida depois de completado o tempo de amadurecimento, também demonstra a existência de substâncias inibidoras da atividade da PME. Entre as substâncias inibitórias pode-se destacar a sacarose, maltose e glicose através de inibição não competitiva e alguns peptídeos por competição aos sítios de ligação da PME. A causa do não amolecimento da polpa de alguns frutos tem sido relacionada a falhas na desmetoxilação o que, mais uma vez, diminuí a ação da PG (JIANG et al, 2003).

Karakurt & Huber (2003) verificaram que a PG e PME do mamão papaya atuam de forma diferente no fruto inteiro ou cortado. A PG influenciou no total de pectinas hidrossolúveis e no tamanho molecular das mesmas, de forma mais intensa nos frutos cortados, enquanto a PME em frutos inteiros ou cortados teve o mesmo nível de atividade, e embora a metil esterificação diminua durante o amadurecimento os resultados sugerem que os níveis de PME podem ter influência indireta no amadurecimento e mudanças na firmeza do mamão papaya.

A β -galactosidase (EC. 3.2.1.23) e a α -galactosidase (EC 3.2.1.22) vêm adquirindo destaque entre as enzimas que atuam em paralelo a ação PG e PME, já que os resíduos galactosil representam os maiores açúcares neutros da parede celular

perdidos durante a maturação da maioria dos frutos. Contudo os efeitos da desgalactosilação das pectinas ainda não estão completamente compreendidos para todos os frutos. No abacate (WAKABAYASHI, 2000b) e no melão (VILLANUEVA et al, 2004) pode ter efeito direto na diminuição da massa molecular dos isolados de pectinas obtidos nos diferentes estádios de maturação.

Em mamão papaya a α -galactosidase está fortemente correlacionada com a perda de firmeza do fruto. Acredita-se que ela pode ter atividade de trans-glicosilação, uma propriedade catalítica que é revelada durante as modificações da parede celular no crescimento e desenvolvimento. Seus prováveis substratos são as cadeias de galactanas ou arabinogalactanas que atuam na formação de ligações cruzadas entre as cadeias de celulose e xiloglucanas (SOH et al, 2006).

A poligalacturonase liase - PL conhecida como trans-eliminase de pectatos, catalisar clivagem de pectinas desesterificadas, atuando sobre as ligações cruzadas dos polissacarídeos pécticos. A clivagem por PL requer a presença de íons de cálcio e geram oligossacarídeos com resíduos galacturonosil insaturados, sua ação não resulta apenas na degradação da parede celular, mas também na ativação dos sistemas de defesa (MARÍN-RODRÍGUEZ et al, 2002; GOULAO et al, 2007).

De fato uma única enzima não parece ser responsável pelo desarranjo da parede celular e com o advento da biologia molecular, um número considerável de genes tem sido recentemente identificado, demonstrando o papel de algumas das famílias de enzimas relacionadas ao amolecimento dos frutos. Estes estudos estabelecem correlações entre o acúmulo de RNAm e os dados de estado fisiológico e fenótipo. A combinação destas informações moleculares tem sido usada para gerar dados sobre papel fisiológico de cada enzima, seja bloqueando-a ou exacerbando sua expressão (GOULAO et al, 2007; SEYMOUR et al, 2002)

Entretanto, o fato das mudanças em nível de RNA poderem predizer as modificações a nível enzimático, não garante que o transcrito será necessariamente traduzido e as proteínas detectadas podem não ser necessariamente modificada por mecanismos pós-traducionais e/ou poder não ser totalmente ativas. Além disso, o papel de cada enzima pode não ser totalmente explicado pelos estudos de uma única isoforma (o que ocorre na maioria dos estudos), já que existe a presença de diversas isoformas com distintos padrões de expressão, o que pode mascarar as atividades individuais em um determinado estágio do desenvolvimento (GIOVANNONI, 2004; GOULAO et al, 2007).

Outros fatores específicos também podem influenciar a atividade enzimática, entre estes pH e a composição iônica do fluido apoplástico. Para tomate (ALMEIDA & HUBER, 1999) maçã (FISCHER et al, 1994) , kiwi (GALLEGO & ZARRA, 1997), carambola (CHIN et al, 1999) e mamão papaya (PALL et al, 1999) as condições ideais são as verificadas no fruto em estádios finais de maturação, com pH apoplástico próximo a 4.5 e aumento da permeabilidade aos íons de K^+ .

A figura 04 é uma representação esquemática dos eventos de despolimerização das pectinas e xiloglucanas durante o amadurecimento, ela representa a intensa degradação e as mudanças na integridade da parede celular, como acidificação, aumento do tamanho dos poros, melhoria na mobilidade das hidrolases da parede celular, remoção de polímeros de caráter adstringente, de ligações metil e acetil. (BROWNLEADER et al., 1999).

A integração dos conhecimentos nos campos da genética, biologia molecular e bioquímica pós-colheita vem possibilitando o melhor entendimento e controle do processo de maturação, além de se tornarem ferramentas utilizadas no aumento da qualidade e durabilidade dos produtos durante o transporte a longas distâncias, vida-de-

prateleira, palatabilidade e aceitação pelo consumidor, e possibilitando a abertura e diversificação do mercado econômico, o que aumenta a disponibilidade e a estabilidade de frutas e hortaliças no mercado interno e externo.

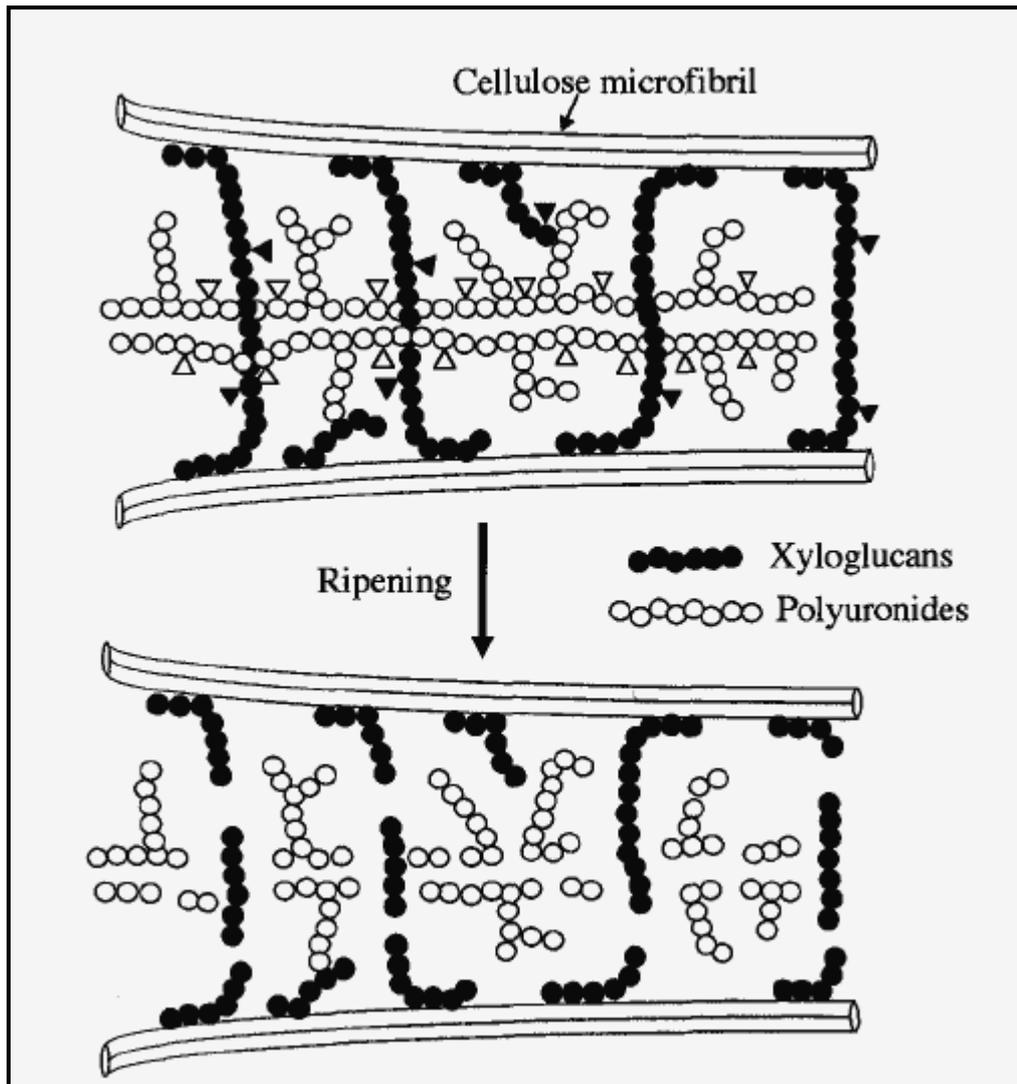


Figura 04: Representação dos eventos de despolimerização dos poliuronídeos e xiloglucanas da parede celular. Triângulos pretos representam a atuação das enzimas sobre as xiloglucanas e celulose e triângulos claros a atuação das hidrolases sobre os polissacarídeos pécicos.

Fonte: Wakabayashi, 2000a.

3.0 Objetivos

3.1 Geral

Avaliar a influência do processo de maturação sobre a estrutura e principais componentes da parede celular de duas cultivares de mamão: papaya (*Carica papaya L*) e formosa (*Carica sp.*).

3.2 Específicos

- Avaliar a relação entre a cor e a firmeza dos frutos em seus diferentes estádios de maturação;
- Analisar as mudanças físico-químicas nos diferentes estádios de maturação e cultivar;
- Estimar a influência do processo de maturação sobre o % pectinas, grau de metoxilação (GME) e diâmetro dos fragmentos isolados da pectina de diferentes cultivares;

4.0 Material e Métodos

4.1 Local da experimentação

Os experimentos para determinação do % pectina, pH, °Brix e firmeza foram realizados no Laboratório de Experimentação e Análise de alimentos Nonete Barbosa Guerra - LEAAL, do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

A liofilização das pectinas isoladas de mamões em diferentes estádios de maturação foi realizada no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA.

Os ensaios para determinação do conteúdo de celulose e fibra detergente ácido dos frutos foram realizados na Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, Laboratório de Plantas e Rações.

As análises de Espectroscopia de Infravermelho foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental.

A Microscopia de Varredura foi realizada no Instituto de Tecnologia de Pernambuco - ITEP, Laboratório de Materiais.

4.2 Amostragem dos frutos

Mamão papaya (*Carica papaya*) e formosa (*Carica sp.*) foram obtidos no Centro de Abastecimento Alimentar de Pernambuco - CEASA na cidade de Recife, Estado de Pernambuco, um dia após terem sido colhidos na cidade de Natal, Estado do Rio Grande do Norte. Para a amostragem, frutos pesando 400 a 500g (mamão papaya) e 1000 a 1900g (mamão formosa) foram selecionados e agrupados em três diferentes estágios de maturação de acordo com o percentual de amarelecimento da casca, o qual foi avaliado visualmente (verde: 0-25%, de vez: 26-75% e maduro: 76-100%), segundo a portaria 348/06 (BRASIL, 2006). Os mesmos estavam livres de defeitos superficiais e continham sementes.

Imediatamente depois de obtidos, os 60 frutos foram pesados e lavados com água corrente e detergente neutro, secados ao ambiente, e quantificados quanto à firmeza para a posterior preparação do líquido.

4.3 Avaliação da firmeza, °Brix e pH

As análises qualitativas dos frutos basearam-se na determinação da firmeza através do uso de um penetrômetro (Fruit-test 327) com uma ponta cônica de 01 cm de comprimento, refratômetro (aus-JENA) e potenciômetro digital (Tecnal). Para a primeira determinação retirou-se a casca das duas faces opostas da região equatorial do fruto, posicionou-se a ponteira perpendicularmente a polpa, e a submeteu a força limite do fruto (figura 05 e 06), obtendo-se a leitura em Libras, que foi posteriormente

convertida em Newton, tomadas em quatro diferentes pontos. A quantificação do °Brix e pH foram realizadas após preparação da polpa em multi-processador e desta retirou-se uma alíquota para leitura direta em refratômetro e potenciômetro ambos as determinações seguiram os procedimentos preconizados pela AOAC (2002).



Figura 05: Preparação do fruto para avaliação da firmeza.



Figura 06: Determinação da firmeza.

4.4 Determinação dos constituintes da parede celular

4.4.1 Extração e isolamento da pectina

Os frutos foram descascados, retiradas as sementes e tomada quantidade suficiente que permitisse obter sub-amostras de 100g cada, as quais foram homogeneizadas em multi-processador. A cada uma delas foi adicionado 800ml de água deionizada e o pH ajustado para 2.2 com ácido cítrico a 10% utilizando um potenciômetro. Subsequentemente a polpa foi aquecida até fervura, e mantida por 30 minutos, esfriada e filtrada em tecido de poliéster (Lima, 2007).

Para o isolamento da pectina a partir do filtrado seguiu-se o procedimento: adição de um volume aleatório (q.s.p.) de etanol a 95%, para a precipitação exaustiva de toda a pectina; lavagem e filtração sucessiva com etanol a 99% e lavagem final com acetona 99%. O precipitado final foi deixado secar a temperatura ambiente por 24h e submetido a liofilizado até peso constante (metodologia de Mc Cready (1970) adaptada por Paixão & Silva, 2005).

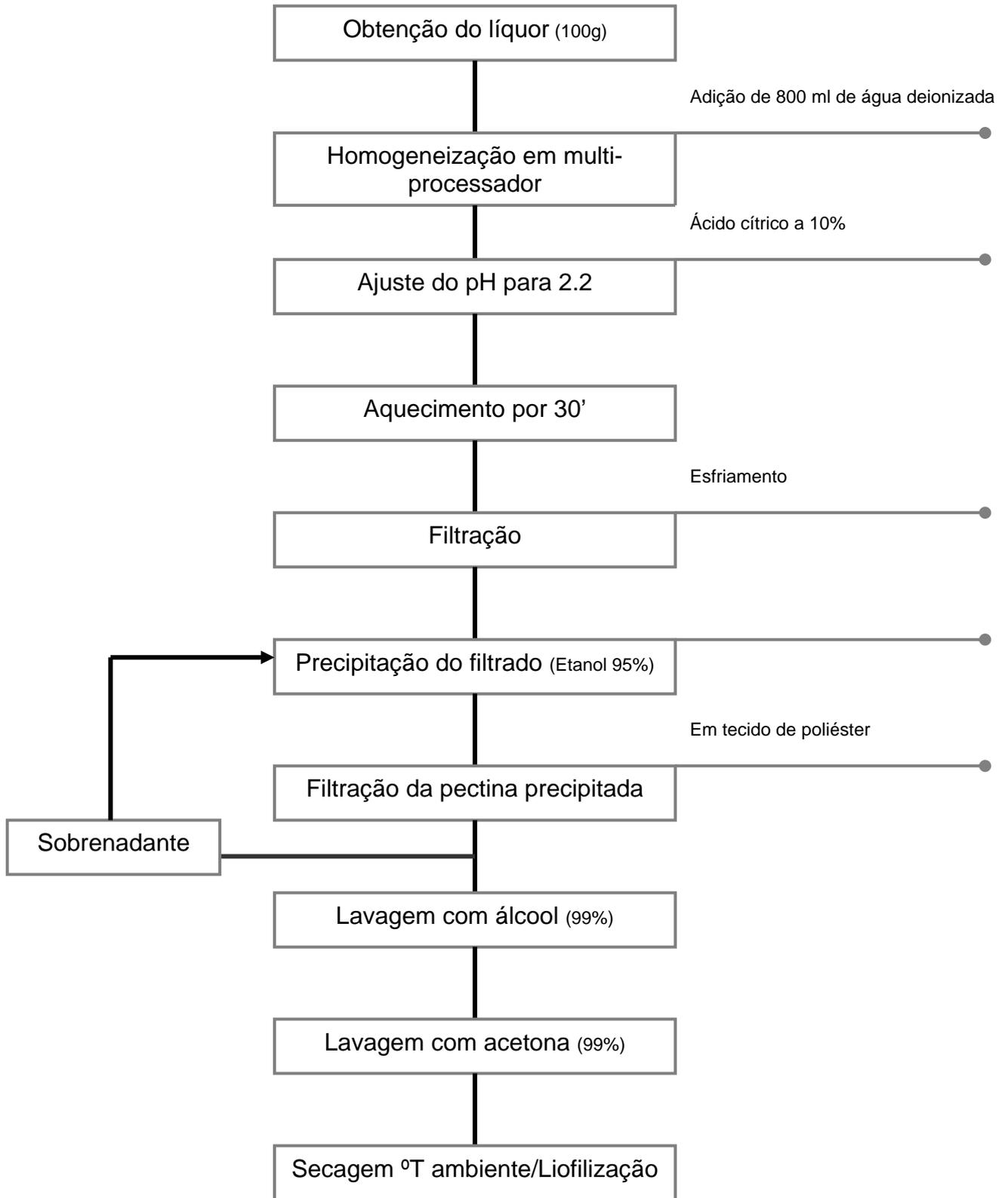


Figura 07: Fluxograma do processo de extração e isolamento das pectinas (Lima, 2007).

4.4.2 Determinação do conteúdo de celulose e fibra detergente ácido (FDA)

A determinação da “fibra em detergente ácido” (FDA) e celulose seguiram o método desenvolvido por VAN SOEST (1967), o qual permite conhecer os constituintes menos solúveis da parede celular. Esta é realizada por refluxo a quente de uma amostra em solução, contendo ácido (H_2SO_4 -1N), para solubilizar açúcares, amidos, hemiceluloses e algumas pectinas; e detergente (Brometo-cetil-trimetilamônio-CTAB) para remoção de proteínas. Por este método, FDA, celulose, e lignina são quantitativamente determinadas (VAN SOEST, 1991).

Abaixo segue fluxograma (figura 08) com as principais etapas para aplicação do método de Van Soest.

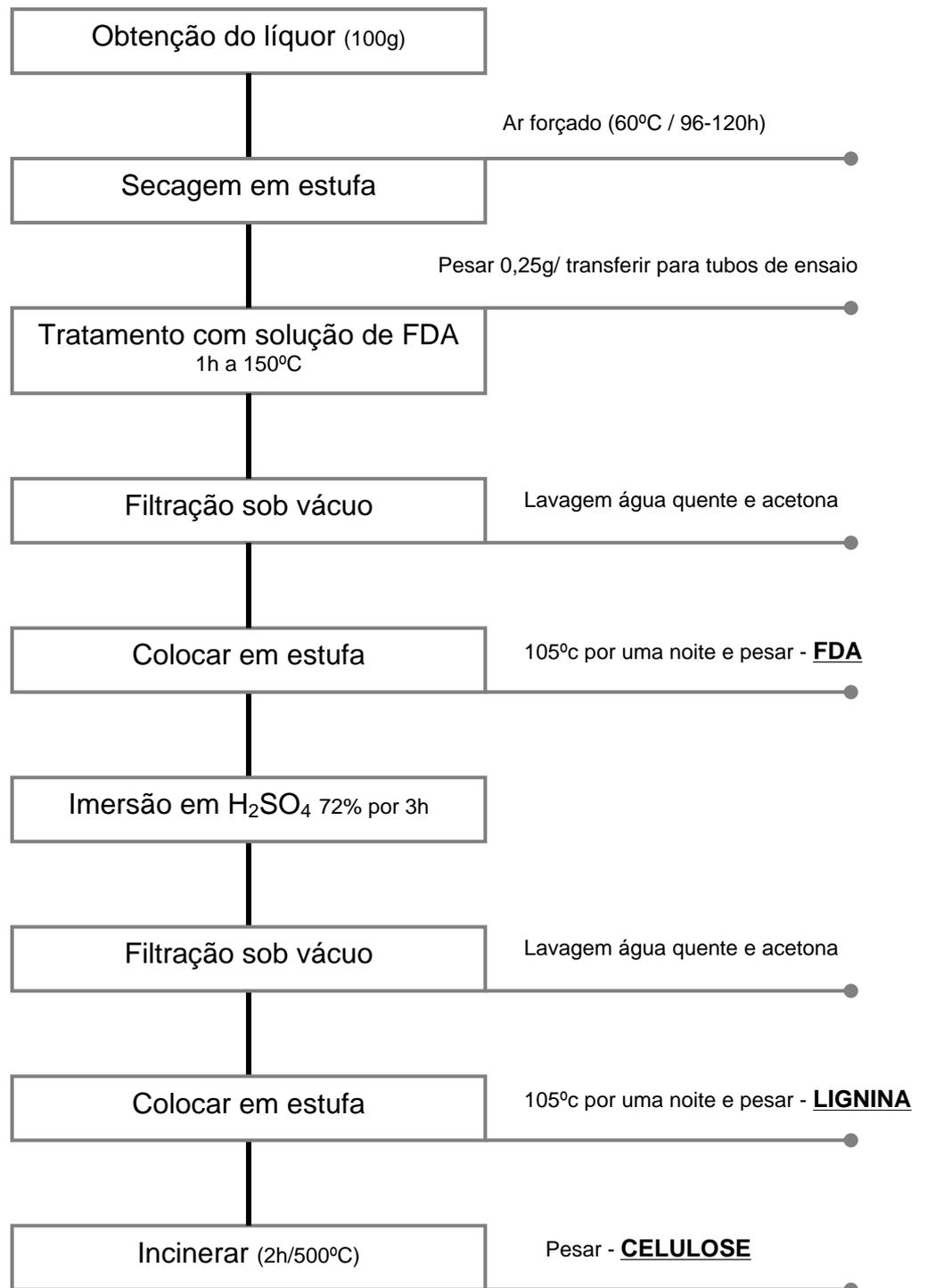


Figura 08: Fluxograma para determinação de FDA, celulose e lignina (Van Soest, 1967).

4.5 Determinação dos diâmetros dos fragmentos de pectinas liofilizadas

O diâmetro das pectinas liofilizadas foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura (Shimadzu; Voltagem 20 Kv; *Spotsite*:10) com as amostras analisadas em camada simples e os diâmetros determinados pelo Software de Morfometria *Image J*.

4.6 Espectroscopia de infravermelho

4.6.1 Preparo das pastilhas de KBr

Para as análises de infravermelho, todo material liofilizado foi homogeneizado em pistilo e dessecados a vácuo. As amostras foram homogeneizadas com KBr (9:1 sal-amostra) e com o auxílio do compressor (Beckman 00-25), foram obtidas as pastilhas, as quais foram encaminhadas para obtenção dos espectros de IV em Espectrofotômetro de Infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF) (Brukel IFS 66) na faixa de absorvância de 400-4000 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} .

4.6.2 Determinação do grau de metoxilação

A partir da identificação das bandas 1650 e 1750 cm^{-1} , através da equação: $[\text{Abs}1750 \text{ cm}^{-1} / \text{Abs}1650 \text{ cm}^{-1} + \text{Abs} 1750 \text{ cm}^{-1}]$ que permite estimar o grau de metoxilação das amostras de pectina (MANRIQUE & LAJOLO, 2002; CHATJIGAKIS et al, 1998). Os dados de absorvância foram plotados na equação para reprodução da

curva de regressão linear: $Abs = 0,00508 + GME (0,19663)$, com $R^2 = 0,9335$, obtida por Lima (2007).

4.7 Delineamento experimental

Para avaliar possíveis interações, foi utilizado um planejamento fatorial 2 x 2 com as seguintes variáveis dependentes: pH, °Brix, tamanho de partícula, rendimento de pectina, grau de metoxilação, celulose e FDA. Os contrastes das interações foram avaliados segundo codificação da tabela 01.

Tabela 01: Codificação dos contrastes

Codificação	Contrastes
CV	Interação entre cultivares (papaya e formosa)
EM₀	Interação entre verde e de vez independente do cultivar
EM₁	Interação entre verde e maduro independente do cultivar
CVxEM₀	Interação entre papaya verde e formosa de vez
CVxEM₁	Interação entre papaya verde e formosa maduro

Legenda: CV- Cultivar

EM- Estádio de maturação

4.8 Análise estatística

Os dados obtidos para resolução do estágio de maturação através da cor e firmeza dos frutos foram analisados com o auxílio da estatística gama (γ) (GOODMAN & KRUSKAL, 1954). Esta assume coeficientes de correlação com valores na amplitude de $-1 \leq \gamma \leq +1$, valores negativos de γ indicam classificações em direções opostas pelos critérios considerados. Um valor $|\gamma| = 1$ indica uma relação linear perfeita entre as classificações dos dois critérios. A estatística gama é definida da seguinte forma:

$$\gamma = (C - D) / (C+D)$$

Onde:

C indica o número total de pares concordantes de classificação e

D, o número total de pares discordantes.

As variáveis dependentes foram analisadas através da construção de gráficos de probabilidade normal (CUTHBERT, 1959) para identificação das interações e estudo contrastes, utilizando o programa computacional R da *Foundation for Statistical Computing*, versão 2.6.

A interpretação dos gráficos baseia-se em identificar efeitos possivelmente ativos em um estudo experimental que envolve estrutura fatorial de tratamentos apontando a direção correta dos efeitos. Para sua aplicação eficaz é necessário que os contrastes tenham a mesma variância estando fundamentado ainda na esparsidade dos efeitos. Segundo esse princípio, espera-se que apenas uma pequena fração dos contrastes deverá ser ativa dentre todos aqueles envolvidos no estudo. Nestes gráficos, os efeitos cujos pontos estiverem claramente afastados de uma reta imaginária, formada pela nuvem de pontos, serão julgados ativos (BOX et al, 2005).

5.0 Resultados e Discussão

5.1 Resolução dos estádios de maturação do mamão papaya e formosa

As mudanças na cor da casca e a firmeza são considerados índices de maturidade bastante confiáveis, sendo utilizado, para determinar o ponto de colheita do fruto (KARAKURT & HUBER, 2003). Souza (1998) verificou que frutos de mamão papaya colhidos no estágio de “duas manchas amarelas” apresentaram melhor associação entre qualidade e manejo pós-colheita.

Neste estudo os frutos comprados segundo critério de classificação cor (BRASIL, 2006) em três diferentes estádios de maturação (“verde”, “de vez” e “maduro”) foram avaliados quanto à firmeza a fim de verificar a equivalência de ambos os métodos através da estatística gama (GOODMAN & KRUSKAL, 1954).

Para averiguação das informações concordantes os dados foram organizados de forma a confrontar os dois critérios, que são sumarizados nas tabelas 02 e 03.

Tabela 02: Classificação do mamão papaya com relação à maturação nos dois critérios estudados.

Mamão papaya		Firmeza		
		Verde Acima de 80 N	De vez 80-20 N	Maduro Abaixo de 20 N
Cor	($\gamma=1$) Verde 0-25% amarelecimento	10	0	0
	De vez 26-75% amarelecimento	0	4	6
	Maduro 76-100% amarelecimento	0	0	10

Tabela 03: Classificação do mamão formosa com relação à maturação nos dois critérios estudados.

Mamão formosa		Firmeza		
		Verde Acima de 80 N	De vez 80-20 N	Maduro Abaixo de 20 N
Cor	($\gamma=1$) Verde 0-25% amarelecimento	10	0	0
	De vez 26-75% amarelecimento	0	3	7
	Maduro 76-100% amarelecimento	0	0	10

Como verificado nas tabelas 02 e 03 em ambos os cultivares os valores de $\gamma = 1$ demonstram uma perfeita correlação direta entre os dois os métodos para determinação do estágio de maturação. Evidenciando uma relação direta entre a cor e a intensidade de amarelecimento da casca.

Também Karakurt & Huber, 2003 e Paull et al, 1999 verificaram que a firmeza do mamão papaya diminuía rapidamente com as mudanças na coloração do fruto, principalmente quando este alcançava 40-70% de amarelecimento da casca.

Entretanto Manrique & Lajolo, 2004 em seu estudo, verificaram que o grau de amarelecimento na pele do fruto mamão papaya nem sempre estava correlacionado com as mudanças na firmeza durante os diferentes estágios de amadurecimento. Assim, frutos agrupados no mesmo estágio de amadurecimento de acordo com o critério cor exibiam diferenças quanto à firmeza, e estes autores consideraram esta característica algumas vezes subjetiva.

Apesar das discordâncias na literatura, a estatística gama comprovou a eficiência do uso da firmeza e cor na hora da escolha do fruto, o que é bastante relevante principalmente no contexto dos frutos tipo exportação, que são classificados muitas vezes pelo uso de equipamentos com sistema de seleção visual, os quais variam de mono a policromáticos (FELLOWS, 2006).

Igualmente este estudo pode ter aplicação sobre as variedades de mamão existentes ou ainda ser reproduzido em outros frutos e legumes, principalmente aqueles que apresentam características de firmeza e cor similares as do mamão, permitindo a formação de bibliotecas de cores para uma classificação rápida e eficiente pelos equipamentos computadorizados.

5.2 Avaliação dos estádios de maturação quanto aos componentes estruturais da parede celular

5.2.1 Influência do estágio de maturação e das cultivares sobre o pH, °Brix, conteúdo celulose e fibra detergente ácido (FDA).

Para avaliação da maturação do fruto, podem ser adotados vários parâmetros, sejam eles físicos como: peso, comprimento, diâmetro, cor e firmeza, sejam químicos: como sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável e outros (FAGUNDE & YAMANISHI, 2001).

Para as variedades de mamão estudadas as mudanças no pH e °Brix da polpa do fruto verde para maduro em papaya e formosa (tabela 04) foram concordantes com os estudos anteriormente realizados para determinação das suas características físico-químicas (DRAETTA et al, 1975; DE MARTIN et al, 1971; DE MARTIN et al, 1977, SOLER et al, 1985; SOUZA, 1998; FIORAVANÇO et al, 1996, ALMORA et al 2004).

Tabela 04: Avaliação dos contrastes das cultivares sobre os constituintes não pécnicos.

Contrastes	CELULOSE	FDA	pH	°BRIX
CV	0,097778	0,462222	0,016444	1,244444
Papaya	[7,09 - 7,12]	[9,76 - 9,89]	[5,30 - 5,26]	[10,14 - 12,14]
Formosa	[5,69 - 8,29]	[8,00 - 11,75]	[5,50 - 5,22]	[10,21 - 13,14]
EM₀	1,28	2,033333	-0,05367	1,633333
EM₁	1,313333	1,94	-0,1575	2,466667
CVxEM₀	0,84	1,8	-0,00867	3
CVxEM₁	1,2	1,986667	-0,07733	

Legenda: Variação [verde – maduro]

CV- Cultivar

EM- Estádio de maturação

O teor de sólidos solúveis e o pH podem dar uma indicação do ponto de colheita do fruto, visto que a doçura é um atributo de extrema importância para o consumidor e o seu aumento demonstra o fim da ação da invertase o acúmulo de açúcares redutores. O amadurecimento é resultado da ação das enzimas envolvidas na degradação da parede celular e, portanto o pH do meio é determinante para que estas possam atuar liberando oligossacarídeos e/ou açúcares neutros que também contribuem com a formação do sabor e aroma.

O estudo dos contrastes do pH evidenciou uma discreta interação negativa (figura 09), contudo através do gráfico de probabilidade normal (figura 10) não foi possível identificar nenhuma diferença entre as interações.

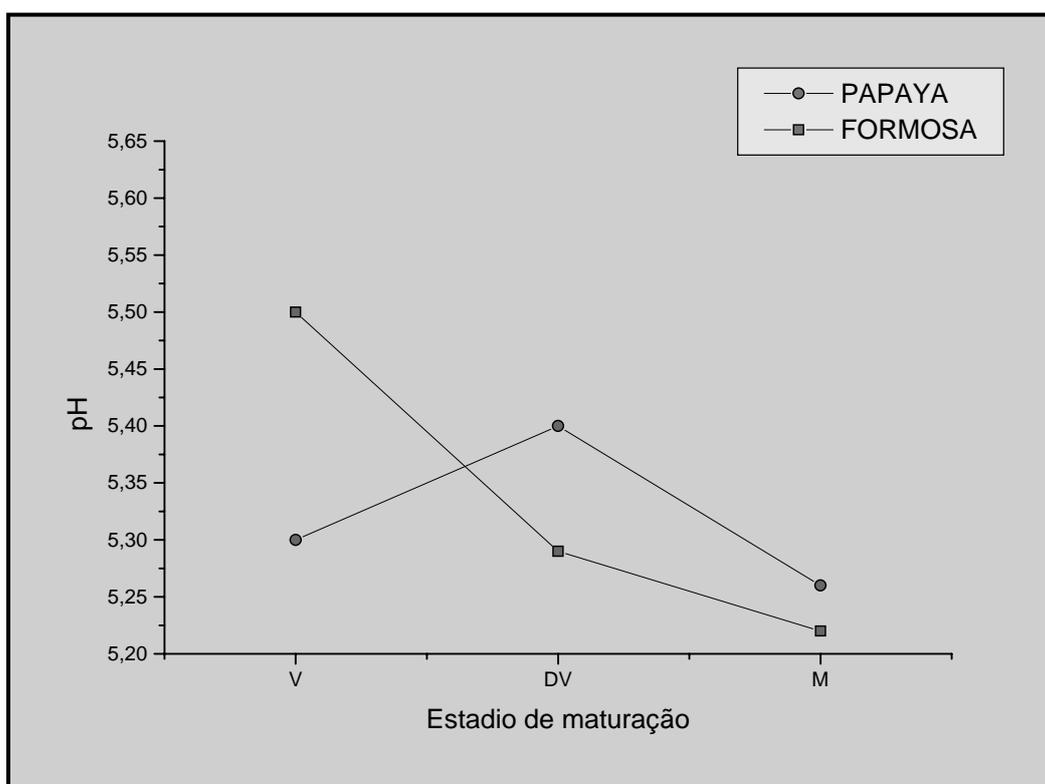


Figura 09: Avaliação do pH nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.

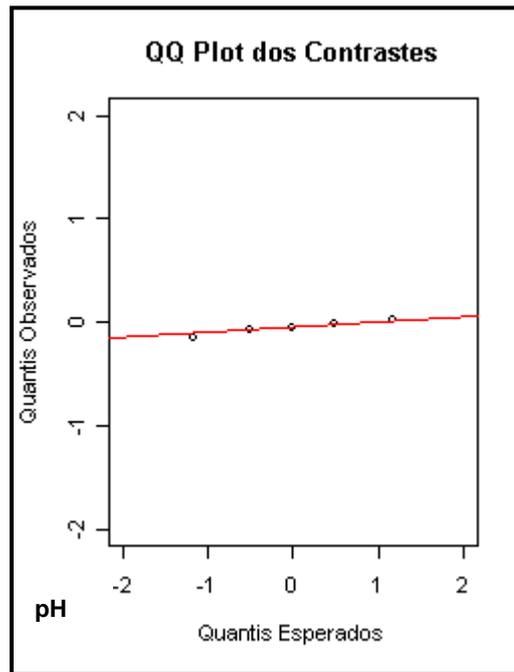


Figura 10: Probabilidade normal dos contrastes para o pH.

Com relação ao °Brix (figura 11) os frutos verdes iniciam com o mesmo conteúdo de sólidos solúveis, mas durante o amadurecimento o mamão formosa acumulou mais açúcares, possivelmente devido a uma maior liberação de oligossacarídeos da parede celular, especialmente os de origem pécica. Entretanto apenas a análise da composição dos açúcares poderia confirmar sua origem. Através do gráfico de probabilidade normal (figura 12) verificou-se uma interação positiva entre papaya verde e formosa maduro, deste modo a mudança de cultivar e estágio de maturação gerou um aumento de três unidades de °Brix (tabela 04).

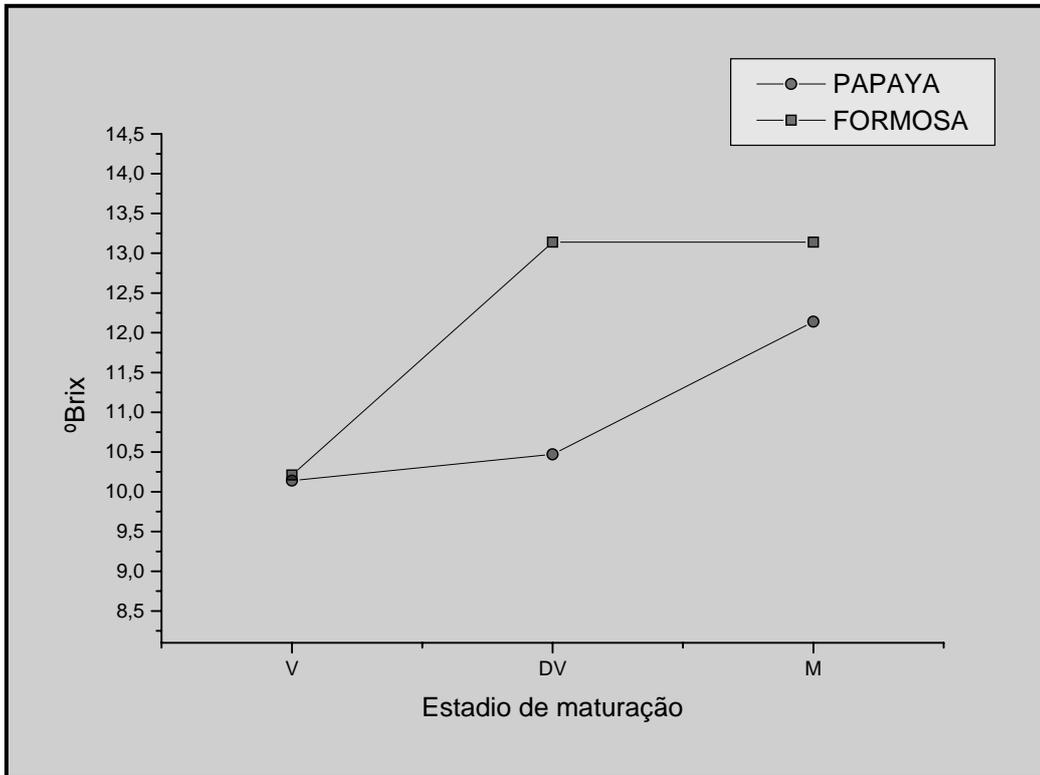


Figura 11: Avaliação do °Brix nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.

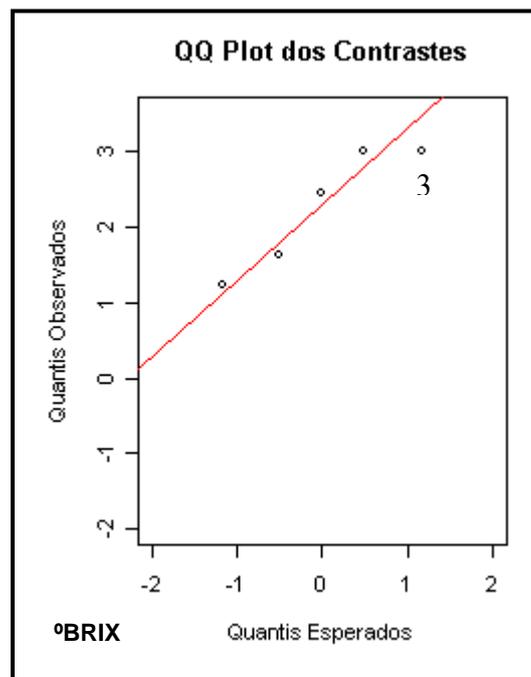


Figura 12: Probabilidade normal dos contrastes para o °Brix.

Tanto para o conteúdo de celulose como para o de fibra detergente ácido foram verificadas interações positivas (figura 13 a 16) que demonstram um aumento dos seus conteúdos durante o amadurecimento em ambos os cultivares. Entretanto quando verificados os valores observados entre os estádios verde para maduro (tabela 04) o mamão papaya apresentou um comportamento estável enquanto que a variedade formosa demonstrou um aumento significativo. O cruzamento dos contrastes evidenciou o efeito do cultivar, o que corroborou o comportamento do mamão formosa.

Mamão papaya (cv. Red Landy) apresentou 1,8 % de FDA no fruto verde e 1,5% no fruto maduro (MAHATTANATAWEE et al, 2006) e *Carica papaya* cultivado na Índia apresentou 2,6% de FDA (RAMULU & RAO, 2003). Estes resultados evidenciaram que o tipo de cultivar e condições de cultivo tiveram grande influência na constituição química do fruto.

O conteúdo de celulose pode ter influenciado na firmeza do mamão formosa, ou ainda a rede de microfibrilas de celulose pode ter formado mais interações químicas com outros constituintes da parede celular, o que indica que uma porção solubilizada durante o amadurecimento foi originada de polímeros mais fortemente presos a parede celular, talvez ligado a hemicelulose (VAN SOEST, 1991; WAKABAYASHI et al, 2000b).

A xilanase e a XET são enzimas que podem ter um papel decisivo nas modificações da parede celular com relação a hemicelulose. Há uma correlação direta entre o aumento do pico da atividade da xilanase e XET e a degradação da hemicelulose e a diminuição da firmeza dos frutos, o que em alguns casos pode favorecer a *trans* glicosidação com ação biosintética durante o amadurecimento (PAULL et al, 1999; BAUMANN et al, 2007).

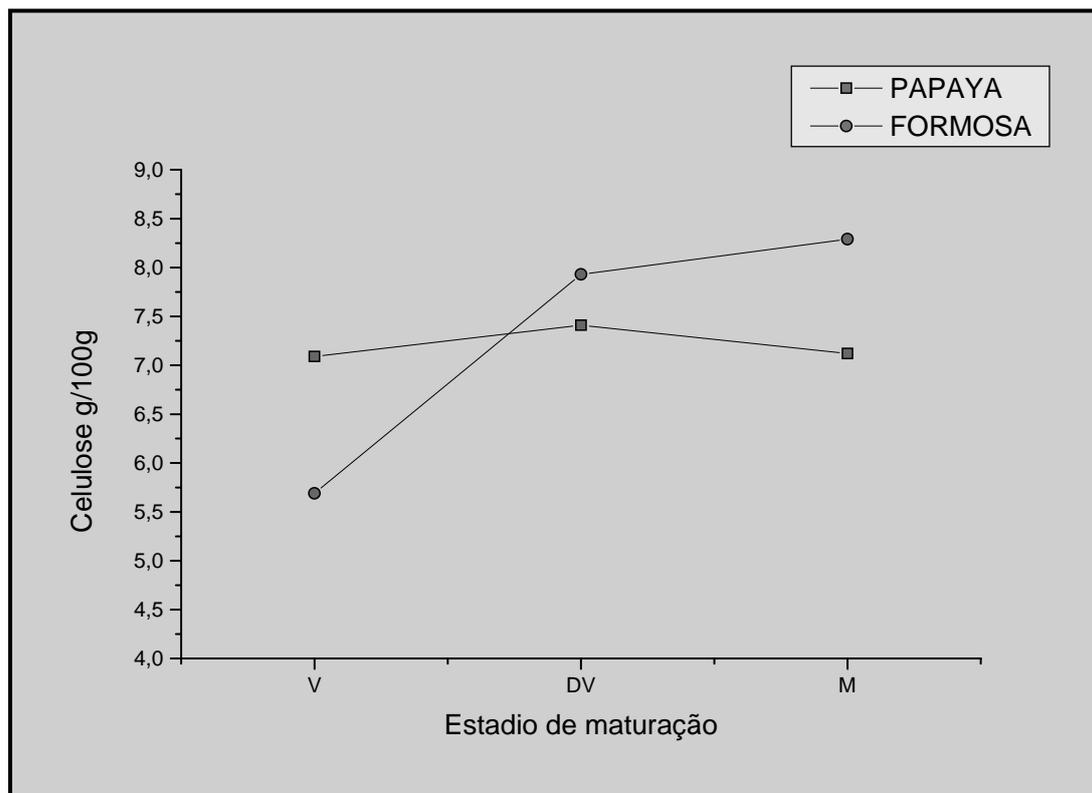


Figura 13: Avaliação do conteúdo de celulose nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.

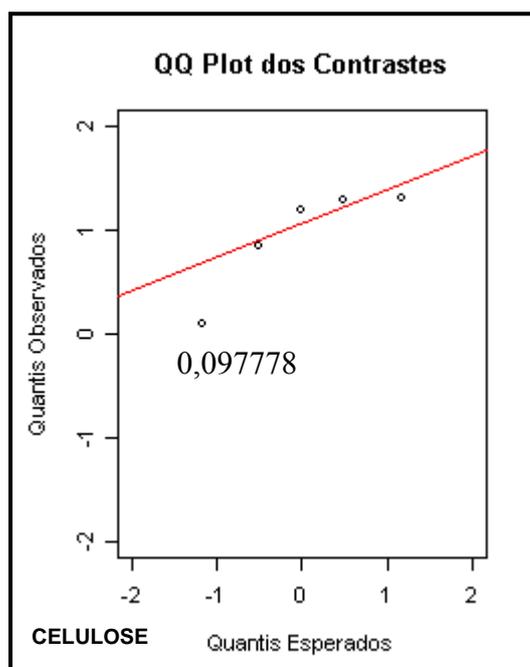


Figura 14: Probabilidade normal dos contrastes observados no conteúdo de celulose.

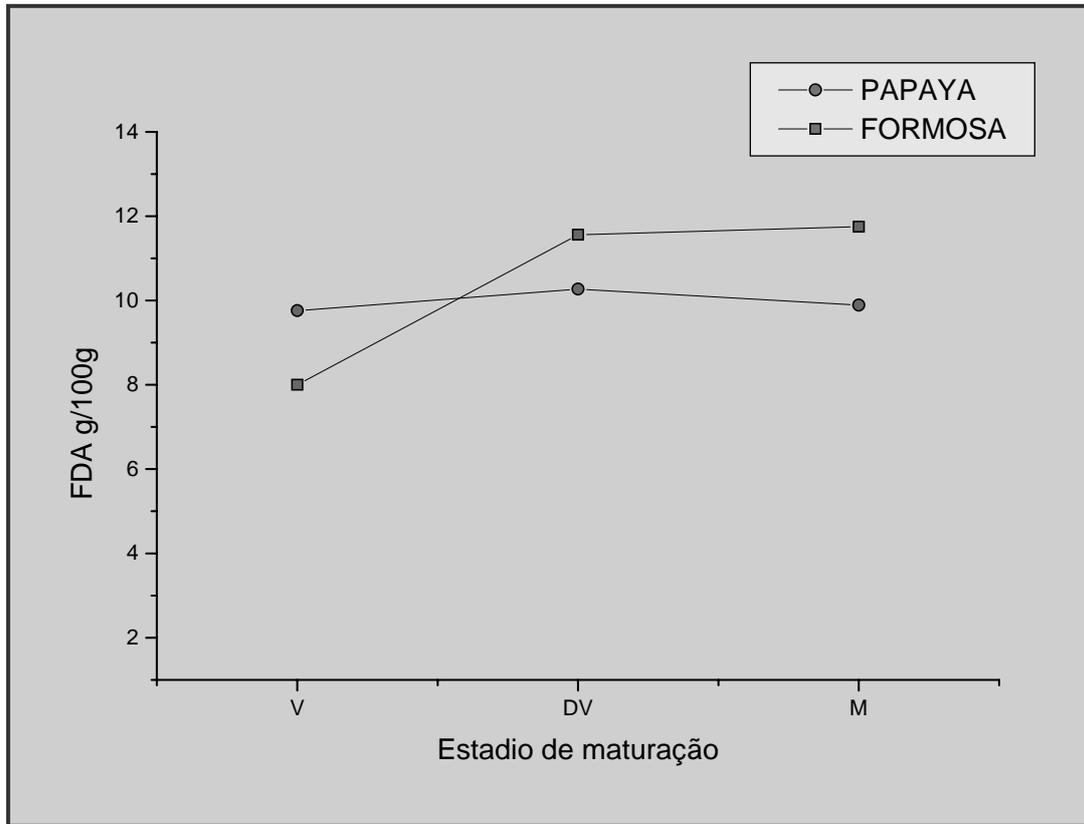


Figura 15: Avaliação do conteúdo de FDA nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.

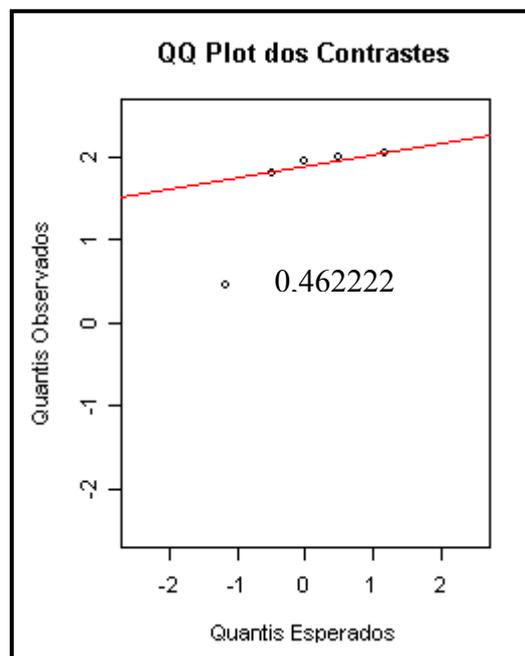


Figura 16: Probabilidade normal dos contrastes observados no conteúdo de FDA.

5.2.2 *Influência do estágio de maturação e cultivares sobre a pectina, grau de metoxilação e tamanho de partícula.*

A despolimerização das pectinas é um evento normalmente correlacionado com diminuição de tamanho, o qual neste estudo foi avaliado através da microscopia eletrônica de varredura dos fragmentos dos isolados em três diferentes estádios de maturação. Em ambos dos cultivares ocorreu uma diminuição evidenciada nas fotos obtidas (figuras 17, 18, 19 e 20) e na medição do diâmetro. Para mamão papaya ocorreu uma diminuição bastante acentuada entre os estádios verde e maduro, contudo na variedade formosa esta diminuição foi mais discreta (tabela 05).

Tabela 05: Avaliação dos contrastes das cultivares sobre os constituintes pécicos.

Contrastes	PARTICULA	Pectina %	GME
CV	-0,44533	-0,04467	2,296588
Papaya	[9,06 - 2,88]	[0,85 - 0,90]	[68,40 - 60,60]
Formosa	[6,01 - 4,55]	[0,90 - 0,72]	[68,16 - 66,57]
EM₀	-1,71535	0,1375	-0,83661
EM₁	-3,8204	-0,06133	-4,69488
CVxEM₀	-3,2189	0,159333	-0,37402
CVxEM₁	-4,5077	-0,125	-1,83071

Legenda: Variação [verde – maduro]
 CV- Cultivar
 EM- Estádio de maturação
 GME – Grau de metoxilação

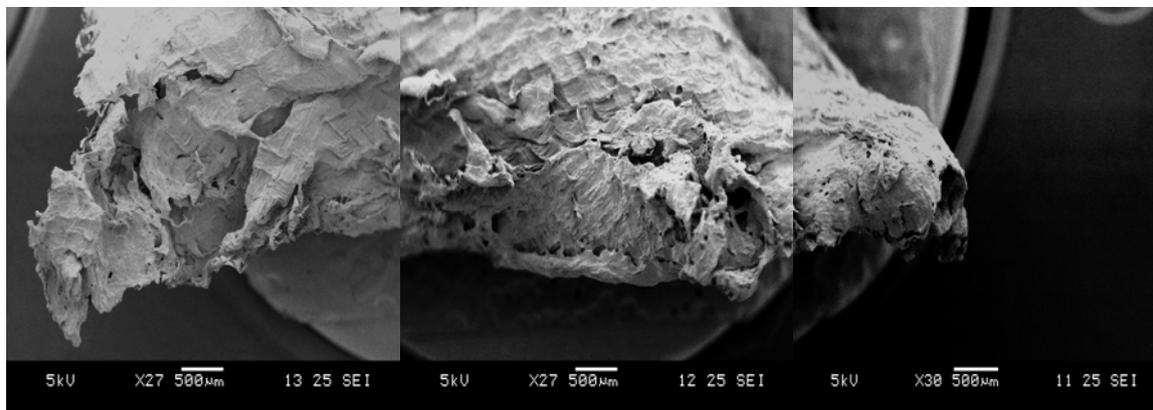


Figura 17: Microscopia eletrônica de varredura do isolado de pectina do mamão papaya verde.

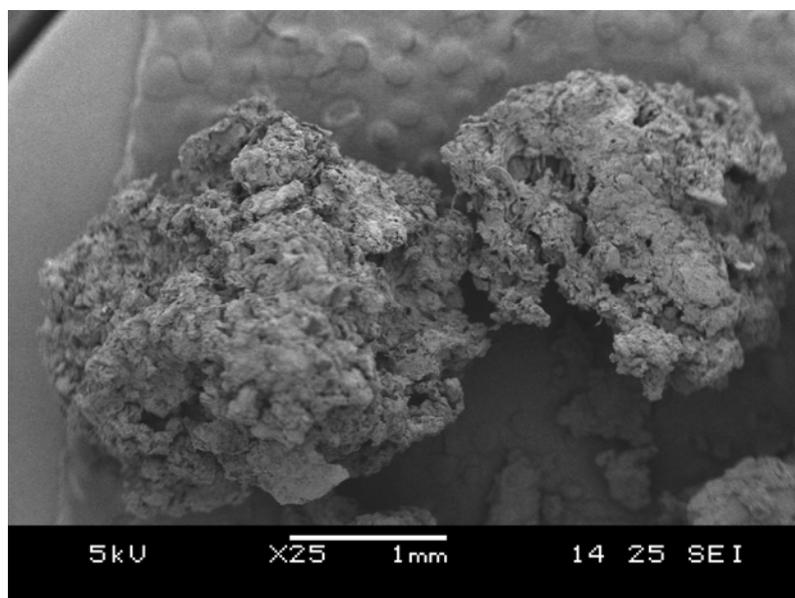


Figura 18: Microscopia eletrônica de varredura do isolado de pectina do mamão papaya maduro.

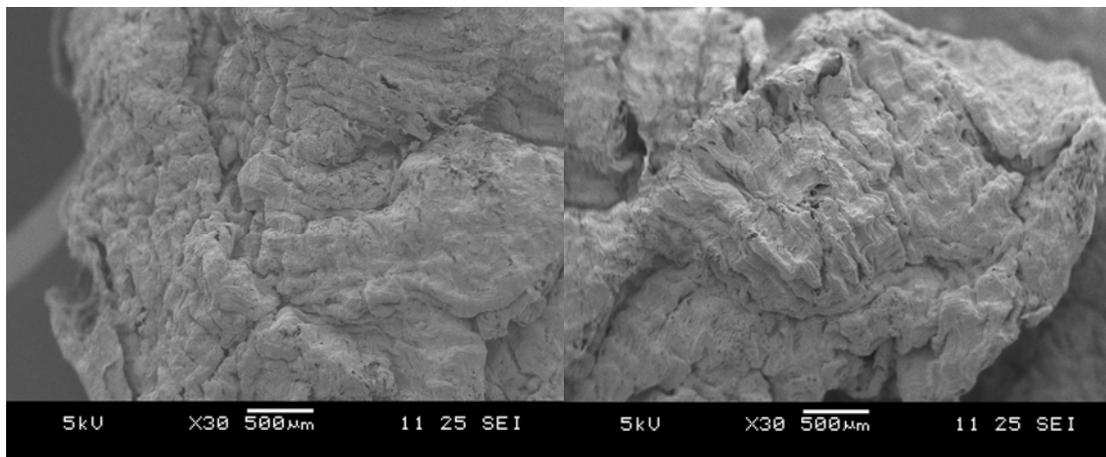


Figura 19: Microscopia eletrônica de varredura do isolado de pectina do mamão formosa verde.

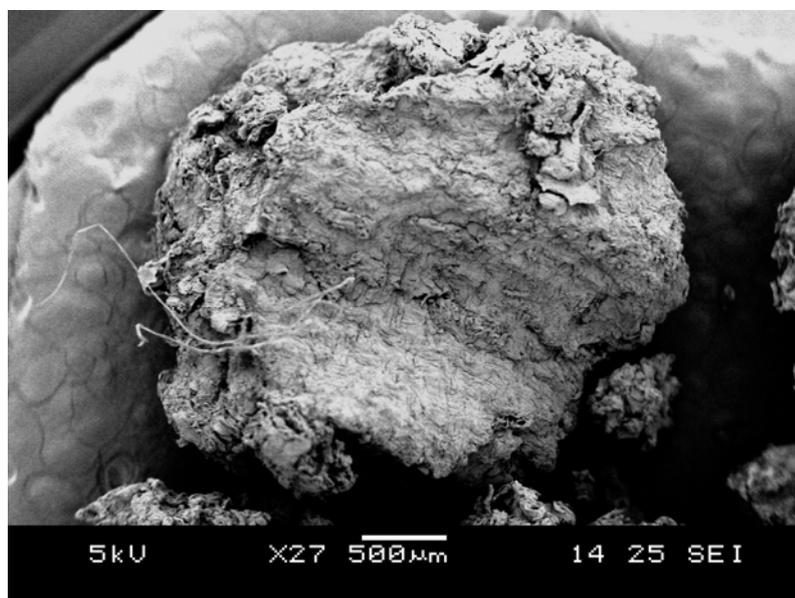


Figura 20: Microscopia eletrônica de varredura do isolado de pectina do mamão formosa maduro.

A avaliação do gráfico de interações (figura 21) demonstra a existência de uma possível correlação negativa entre cultivares e estágio de maturação, concordante com sua diminuição, entretanto no gráfico de probabilidade normal (figura 22) nenhum ponto dos contrastes se afasta da linha, o que impossibilita interpretações mais conclusivas.

Não obstante, o mamão papaya evidenciou uma diminuição do tamanho de partícula de $4,5 \mu\text{m}^2$ quando ocorreu a mudança de cultivar e de estágio de maturação (CVxEM₁) (tabela 05), talvez resultado de atuação diferenciada das enzimas pectinolíticas na degradação da parede celular. Já o maior tamanho dos fragmentos do formosa pode ser resultado da conservação das estruturas ramificadas de açúcares neutros e ainda, diferenças em outras estruturas químicas da protopectina.

Entretanto para o maior entendimento deste efeito seriam necessários estudos mais conclusivos sobre a atuação das poligalacturonases (endo- e exo-), já que esta ocorre em uma enorme variedade de isoenzimas, com tempos e substratos específicos de atuação, e a variedade formosa ainda não possui caracterização de suas enzimas.

Em mamão papaya a atividade da PG aumenta ao mesmo tempo em que ocorrem as maiores mudanças nos polímeros de pectina (PAULL et al, 1999). O aumento na produção de etileno tem influência direta no aumento da atividade da PG, e também de outras enzimas como: Acetil-CoA carboxilase sintase e Acetil-CoA carboxilase oxidase (KARAKURT & HUBER, 2003).

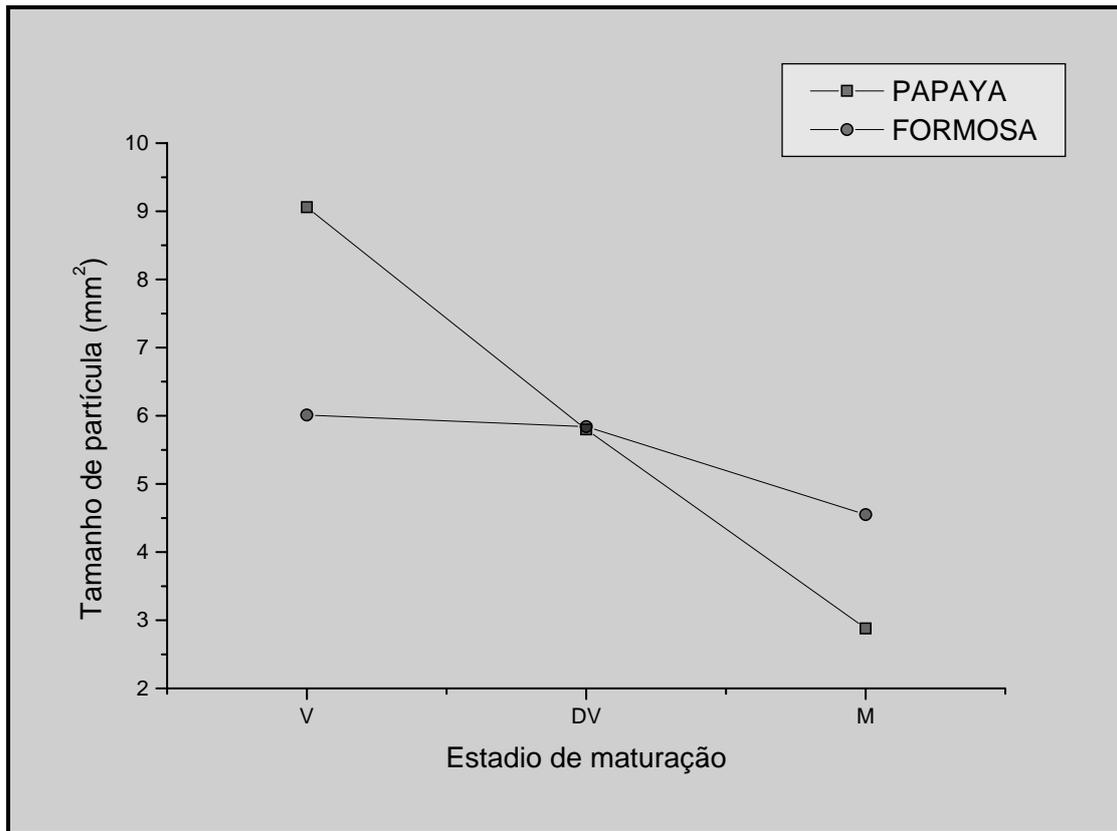


Figura 21: Avaliação do tamanho de partícula nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.

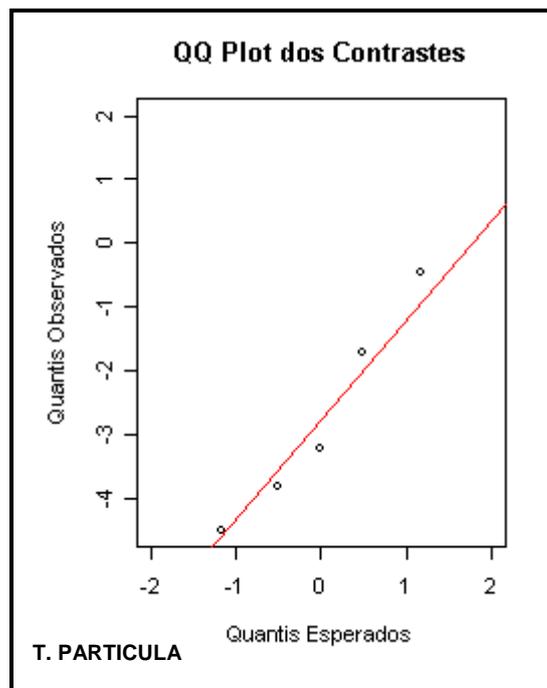


Figura 22: Probabilidade normal dos contrastes do tamanho de partícula.

A redução no tamanho dos fragmentos dos isolados de pectina tem conseqüências também na redução da firmeza do gel obtido na etapa de extração, o que está correlacionado com a quantidade de pectinas presente e, sobretudo com seu grau de metoxilação (KERR & WICKER, 2000). Neste estudo o grau de metoxilação (GME) forneceu informações significativas sobre o processo de maturação nas duas cultivares de mamão.

Durante o amadurecimento, o mamão papaya apresentou uma redução no grau de metoxilação de 12%, já o mamão formosa além de apenas diminuir em 2% o seu grau de metoxilação ainda, esta diminuição só foi verificada quando o fruto passou do estágio “de vez” para “maduro”, na tabela 05 encontram-se as variações apresentadas por ambos cultivares .

Dentre as enzimas pectinolíticas, a protopectinase e poligalacturonase que atua em pH ótimo entre 3,5 - 5,5 e a pectinametilesterase em pH ótimo de 4,0 – 8,0, possivelmente foram as enzimas envolvidas na solubilização e despolimerização das pectinas, além de sua desmetoxilação. Contudo a pectatoliase (enzima que catalisa a quebra de pectatos ou pectinas através de reações de β -eliminação) atua em pH ótimo 7,5 – 10,0, e possivelmente não participou do processo de amadurecimento do mamão de ambos os cultivares (JAYANI et al, 2005).

O GME vem demonstrando ser uma ferramenta útil nos estudos de bioquímica pós-colheita (figuras 23 e 24), e a cada dia corrobora mais informações sobre o comportamento dos frutos durante o processo de maturação. A sua determinação é feita através da análise da vibração das bandas que aparecem entre 1650 e 1750 cm^{-1} . A primeira corresponde à vibração dos íons carboxilato, e a segunda, aos ácidos carboxílicos na sua forma esterificada. A partir da localização destas bandas se permite a determinação do grau de metoxilação das pectinas (CHATJIGAKIS et al, 1998).

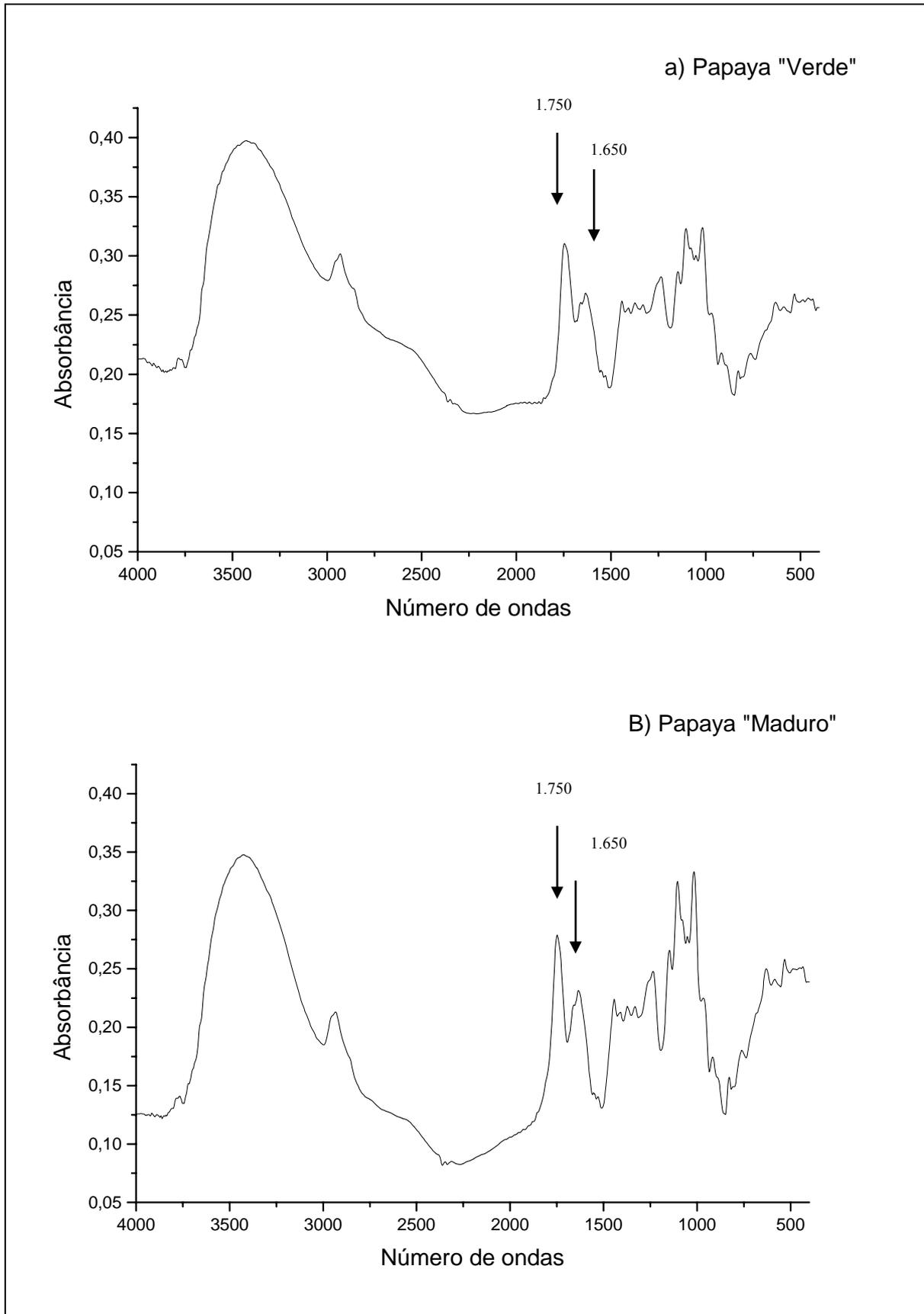


Figura 23: Espectros de Infravermelho do mamão papaya.

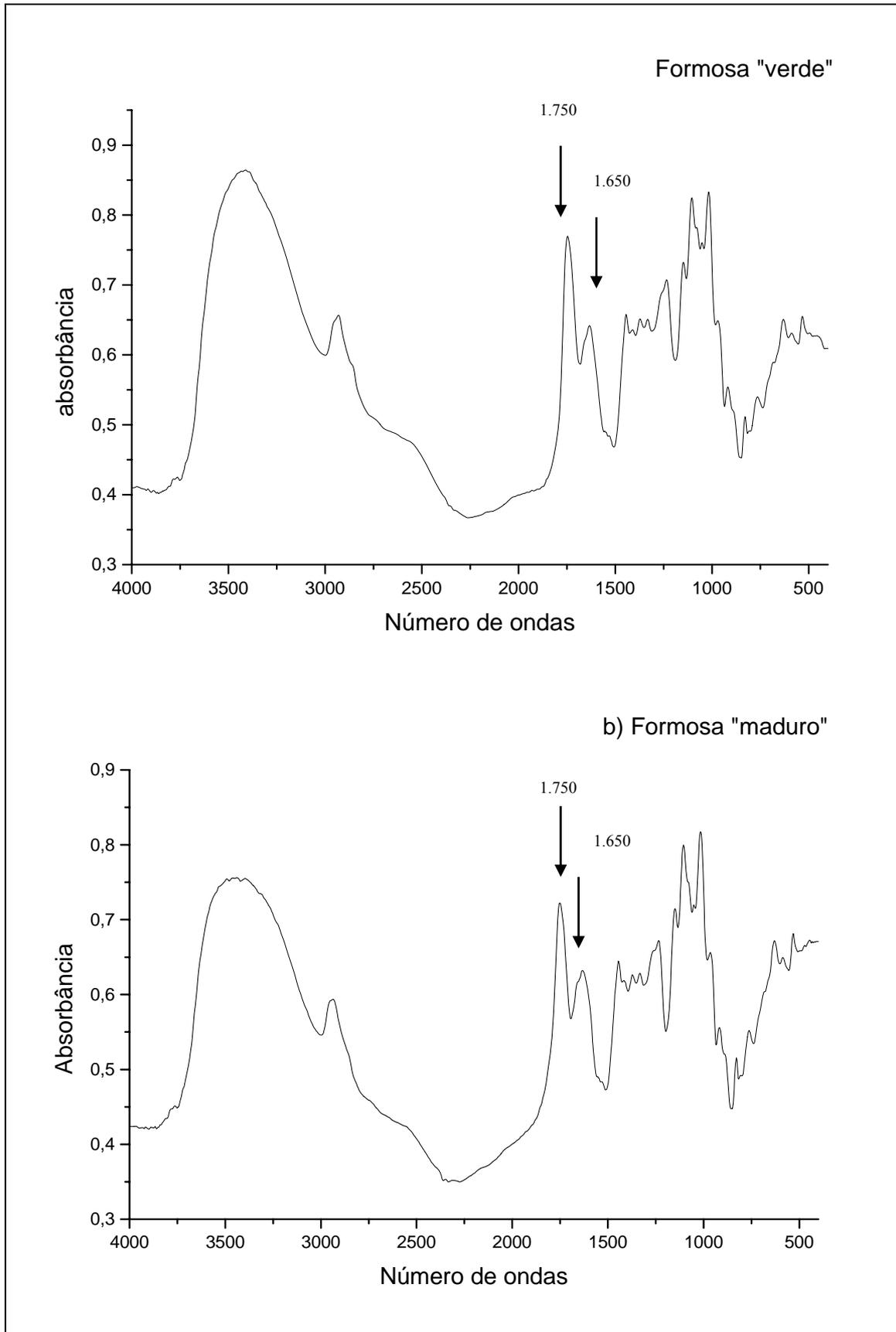


Figura 24: Espectros de Infravermelho do mamão formosa.

Segundo Manrique & Lajolo (2002), a IV-TF é uma técnica apropriada para caracterizar as bandas de pectinas que ajudam na quantificação do seu GME, devido à localização diferencial das bandas de absorção originadas por modalidades vibracionais específicas dos grupos dos átomos do ácido galacturônico (R-COOH) e do metil ester (R-COOCH₃).

O estudo do gráfico das interações (figura 25) evidenciou o comportamento distinto das duas variedades de mamão, que foi confirmado no gráfico de probabilidade normal (figura 26). Neste, dois pontos são destacáveis, **CV** e **EM₁** (tabela 02), os quais correspondem simultaneamente ao tipo de cultivar e estágio de maturação. Deste modo a mudança de cultivar resultou em um aumento de 2,29% e a mudança EM₁ uma diminuição de 4,69% no GME.

Neste estudo a correlação inversa entre firmeza e GME apresentou-se evidente, visto que os valores de firmeza obtidos foram para papaya: 95,10 N, 17,47N e 5,83N e para formosa 95,10N, 13,70N e 3,97N, os quais acompanharam a diminuição no grau de metoxilação nos estádios “verde”, “de vez” e “maduro”.

Pectinas de mamão papaya (frutos obtidos no estado de São Paulo) avaliadas por Manrique & Lajolo (2002), apresentaram uma variação no GME de 66% - 43% entre os estádios verde e maduro, os mesmos também verificaram uma relação oposta entre firmeza e GME das pectinas associadas à parede celular primária e lamela média durante o amadurecimento, onde os valores de firmeza foram 95,42N, 50,70 N e 9,61N respectivamente para os estádios “verde”, “de vez” e “maduro”.

A desmetoxilação ocorre em resposta à ação PME e pode resultar em um número maior de grupos carboxil não esterificados o que facilitaria a ação da PG. Aparentemente a PME tem papel significante na perda de firmeza do papaya durante o amadurecimento (PAULL, 1999; KARAKURT & HUBER, 2003). A maior diminuição

da massa molecular também ocorre em resposta à ação da PME. Isto sugere que pectinas de alto grau de metil-esterificação são capazes de se reunir em grandes agregados de massa molecular possivelmente por meio de forças hidrofóbicas, impedindo a ação das PG, o que pode explicar em parte, as observações feitas em relação ao tamanho de partícula dos isolados de pectina de ambos cultivares no estágio de maturação verde (WAKABAYASHI et al, 2000b).

Resíduos de galacturonosil são parcialmente metil-esterificados, e acredita-se que altos graus de metilesterificação também possam impedir degradação mediada por PG na parede celular de alguns frutos (WAKABAYASHI et al, 2003). Ainda os baixos valores de GME dos frutos maduros obtidos na cidade de São Paulo devem-se aos efeitos das condições edafoclimáticas, o que caracteriza um rápido amolecimento da polpa.

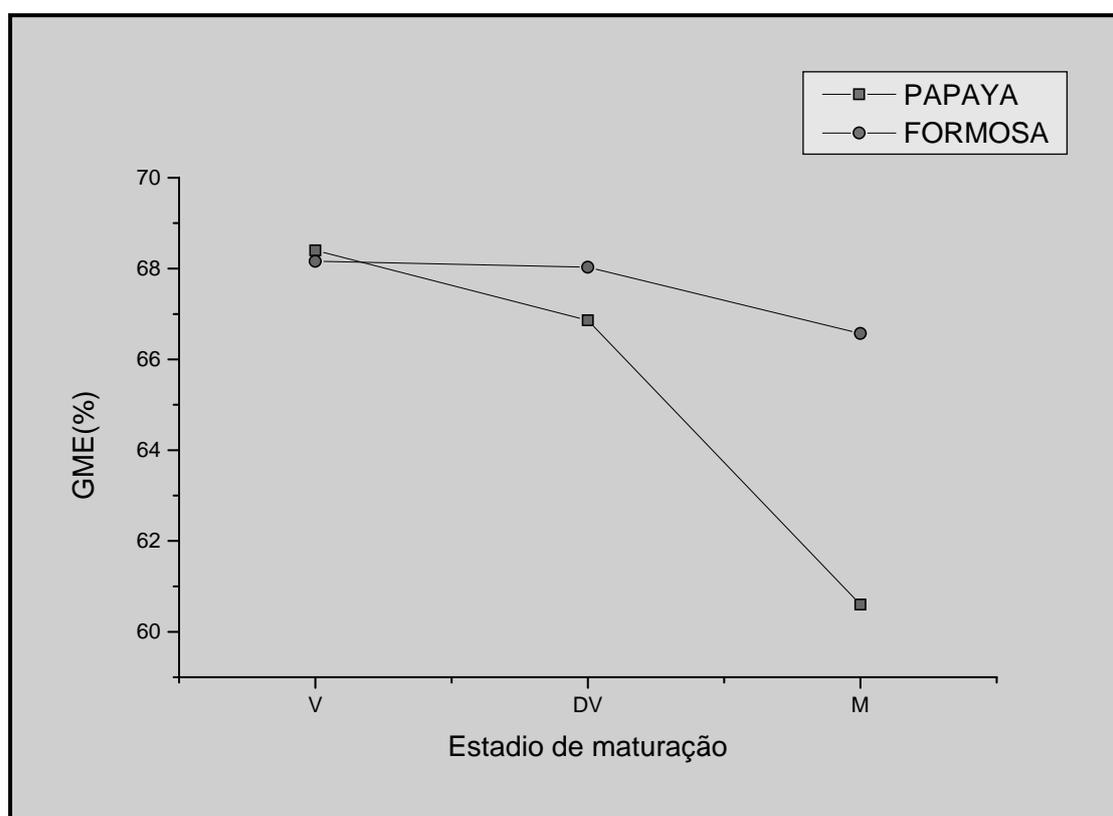


Figura 25: Grau de metoxilação nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.

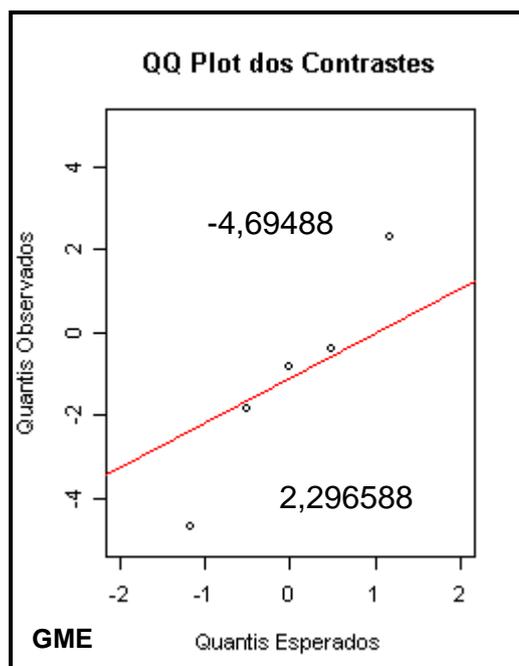


Figura 26: Probabilidade normal dos contrastes do grau de metoxilação.

Parece evidente que as ações mediadas pela PG, PME e outras associadas às enzimas da parede celular podem diferir significativamente entre os frutos. Fatores que contribuem para essas diferenças incluem a solubilidade das enzimas no ambiente apoplástico ou na sua mobilidade, condições iônicas, influência estérica, entre outras (WAKABAYASHI et al, 2003).

A perda de firmeza também tem sido associada com a significativa diminuição do conteúdo de galactose da parede celular, associado com a atividade da β -galactosidase (LAZAN et al, 2004; GOULAO, 2007)

A habilidade da β -galactosidase de mamão papaya em modificar pectina e hemicelulose é concordante com a hipótese de que possa existir no mamão papaya uma rede de interações diferenciadas entre xiloglucanas e pectinas. Este modelo requer que

galactanas ou arabinogalactanas formem ligações cruzadas, interligando a celulose e xiloglucanas a malha de pectinas na parede celular primária (LAZAN et al, 2004)

A α -galactosidase de mamão papaya pode também contribuir na quebra das ligações cruzadas entre as cadeias de celulose e xiloglucanas, atuando como hidrolase, liberando galacto-oligossacarídeos que ocorrem naturalmente como rafinose ou estachiose. Esta atividade foi registrada em frutos imaturos, e aumenta com o desenvolvimento e amadurecimento, tendo sua máxima atividade coincidente com o ponto onde há maior perda de firmeza. (SOH et al, 2006).

Com relação ao conteúdo de pectinas (%), as mudanças de verde para maduro geraram uma diminuição em ambos os cultivares (tabela 05 e figura 27). Contudo, através da análise do gráfico de probabilidade normal (figura 28), percebe-se que essas são insignificantes, o que indica que as diferenças encontradas são efeito do experimento.

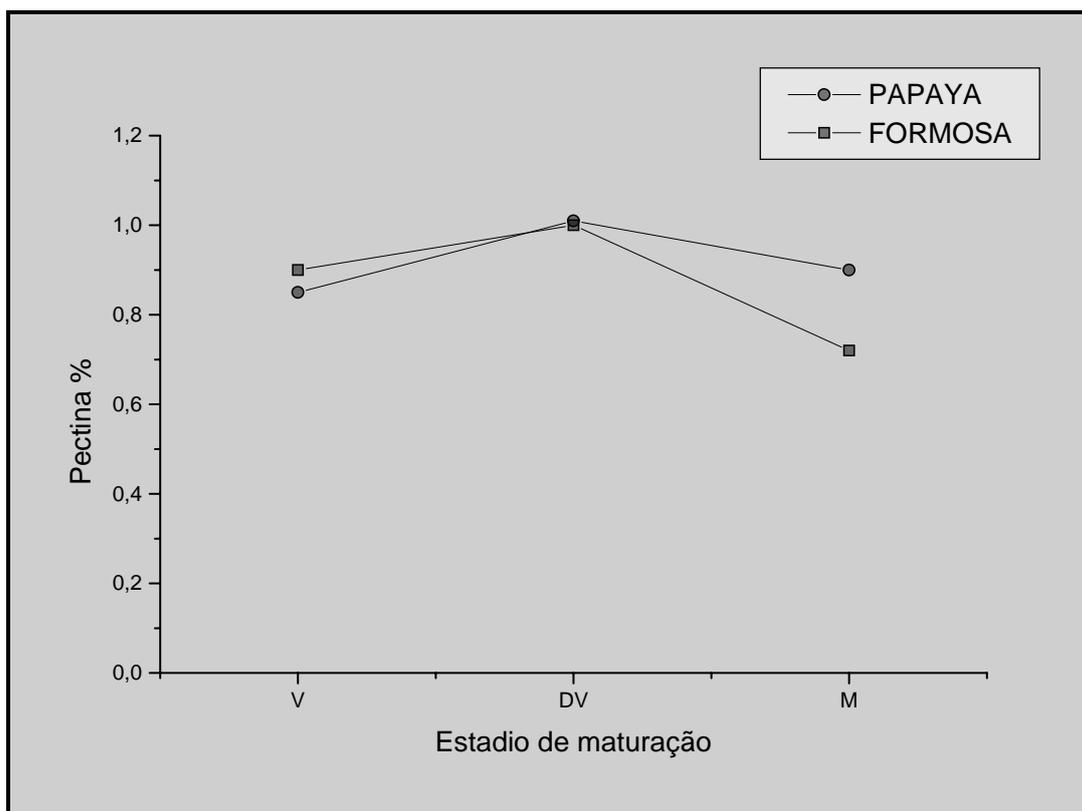


Figura 27: Avaliação do % de pectina nas duas variedades de mamão diante dos estádios de maturação.

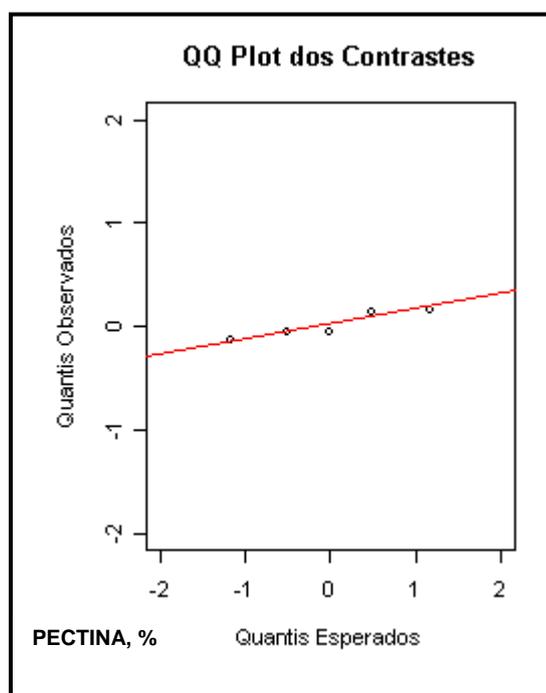


Figura 28: Probabilidade normal dos contrastes do rendimento.

6.0 Conclusões

Os resultados obtidos nas condições empregadas nos permitem concluir:

- A cor e a firmeza podem ser usadas em conjunto ou isoladamente para a resolução do estágio de maturação em cultivares de mamão;
- O mamão formosa apresentou aumento nos seus conteúdos de celulose e FDA durante as mudanças do estágio verde para o maduro, em relação ao mamão papaya;
- O tamanho de partícula dos isolados de pectina diminuiu com a mudança do estágio verde para o maduro, principalmente no mamão papaya;
- O grau de metoxilação e a perda de firmeza diminuem com o amadurecimento em ambos os cultivares, sobretudo no mamão papaya;
- O percentual de pectinas permaneceu constante nos três estágios de maturação o que demonstra que o método pode ser usado na extração de protopectina (fruto verde) e ácido pectínicos (fruto maduro);

7.0 Referências Bibliográficas

ALBERT, B.; BRAY, D.; LEWIS, J. RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. **Molecular biology of the cell**. 1146p. New York: Garland Publishing. 1983.

ALI, Z.M.; CHIN, L.H.; LAZAN, H. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. **Plant Science**, v.167, p.317–327, 2004.

ALMEIDA, D. P. F. & HUBER, D. J. Apoplastic pH and inorganic ion levels in tomato fruit: A potential means for regulation of cell wall metabolism during ripening. **Physiologia Plantarum**, v.105, p.506-512, 1999.

ALMORA, K; PINO, J.A. HERNANDEZ, M.; DUARTE, C.GONZALEZ, J.; RONCAL, E. Evaluation of volatiles from ripening papaya (*Carica papaya* L., var. *Maradol roja*) **Food Chemistry**, v. 86, p.127–130, 2004.

ARRIOLA, M.C.; MENCHU, J.F.; ROLZ, C. Characterization, handling and storage of some tropical fruits. **Central American Resource Institute (ICAITI)**, v.1, n.1, p.19-47, 1976.

AOAC Analytical Official Methods of Analysis. **Official Methods of Analysis**. 17. Ed., Maryland: Association official Analytical Chemistry, 2002.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. Ed. Nobel, São Paulo, 1993.

BAUMANN, M.J.; EKLOF, J.M.; MICHEL, G.; KALLAS, M.A.; TEERI, T.T.; CZJZEK, M.; BRUMER, H. Structural Evidence for the Evolution of Xyloglucanase Activity from Xyloglucan Endo-Transglycosylases: Biological Implications for Cell Wall Metabolism. **The Plant Cell**, v.19, p.1947–1963, 2007.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Portaria nº 348, de 27 de Dezembro de 2006. Estabelece os Procedimentos para a Caracterização, Implantação e Manutenção do Sistema Integrado de Medidas Fitossanitárias para o Manejo de Risco das Pragas-*Ceratitidis capitata* e *Anastrepha fraterculus* em Frutos frescos de Mamão (*Carica papaya*). **Diário Oficial da União**, Brasília, 2007.

BLEECKER, A.B.; KENDER, H. Ethylene: A gaseous signal molecule in plants. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v.16, p.1-18, 2000.

BRON, I.U.; RIBEIRO, R.V. AZZOLINI, M.; JACOMINO, A.P. MACHADO, E.C. Chlorophyll fluorescence as a tool to evaluate the ripening of ‘Golden’ papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.33, p.163–173. 2004.

BROWNLEADER, M.D.; JACKSON, P.; MOBASHERI, A.; PANTELIDES, A.T. SUMAR, S.; TREVAN, M.; DEY, P.M. Molecular aspects of cell wall modification during fruit ripening. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.39, n.2, p. 149-164, 1999.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for Experimenters**. 639p. John Wiley and Sons: New York. 1978.

CANO, M.P.; ANCOS, B.; LOBO, M.G.; MONREAL, M. Carotenoid Pigments and Colour of Hermaphrodite and Female Papaya Fruits (*Carica-papaya* L) cv Sunrise During Post-Harvest Ripening. **J Sci Food Agric**, v. 71, p. 351-358, 1996.

CARPITA, N.C.; GILBEAUT, D.M.; Structural models of primary cell wall in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the wall during growth. **Plant Journal**, v.3, p. 1-30, 1993.

CHATJIGAKIS, A.K.; PAPPAS, C.; PROXENIA, N.; KALANTZI, O.; RODIS, P.; POLISSIOU, M. FT-IR spectroscopic determination of the degree of esterification of cell wall pectins from stored peaches and correlation to textural changes. **Carbohydrate Polymers**, v.37, p. 395–408, 1998.

CHIN, L.H.; ALI, Z.M. & LAZAN, H. Cell wall modifications, degrading enzymes and softening of carambola fruit during ripening. **Journal of Experimental Botany**, v. 50, p. 767-775, 1999.

CUTHBERT, 1959 in: BOX, G. E. P., HUNTER, W. G. & HUNTER, J. S. **Statistics for Experimenters**. 2^a Ed, 639p, Wiley-Interscience: New York. 2005.

DELLAPENNA, D.; LASHBROOK, C.C.; TOENJES, K.; GIOVANNONI J.J.; FISCHER, R.L. BENNETT, A.B. Polygalacturonase Isozymes and Pectin depolymerization in Transgenic rin Tomato Fruit. **Plant Physiology**, v.94, p.1882-1886, 1990.

DE MARTIN, Z.J.; TEIXEIRA, C.G.; BLEINROTH, E.W.; ANGELUCCI, E.; PUPO, L.M.; TOSELLO, Y. Processamento de purê de mamão pasteurizado. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 4, n.1, p.155-176, 1971.

DE MARTIN, Z.J.; OLIVEIRA, N. de; KATO, K.; GALEB, S.E.A.; SILVA, S.D.; LAZZARINE, V. Descascamento mecânico do mamão e processamento do purê asséptico. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.8, n.1, p.409 – 436, 1977.

DRAETTA, I.S.; SHIMOKOMAKI, M.; YOKOMIZO, Y.; FUJITA, J.T.; BLEINROTH, H.M.E. Transformações bioquímicas do mamão (Carica papaya) durante a maturação. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.6, p.395-408, 1975.

FAGUNDE, G.R.; YAMANISHI, O.K. Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo “Solo” comercializados em quatro estabelecimentos de Brasília-DF. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.3, p. 541-545, 2001.

FAO Statistical Databases. <http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/mmffc99.xls>.
Atualizado em 05/04/2003. Consultado em 04/12/2007.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas**.
2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FIORAVANÇO, J.C.; PAIVA, M.C.; CARVALHO, R.I.N.; MANICA, I. Qualidade do mamão' Solo' comercializado em Porto Alegre de outubro 91 a junho 92. **Ciência Agrônômica**, v. 27, n.1-2, p. 67-71, 1996.

FISCHER, M.; ARRIGONI, E.; AMADO. Changes in the pectic substances of apples during development and postharvest ripening. Part II: Analysis of the pectic fractions **Carbohydrate Polymers**, v.25, p.167-175, 1994.

GALLEGO, P. P. ZARRA, I. Changes in cell wall composition and water-soluble polysaccharides during kiwifruit development **Annals of Botany**, v.79, p.695-701, 1997.

GIOVANNONI, J.J. Genetic Regulation of Fruit Development and Ripening. **The Plant Cell**, v.16, p. 170-180, 2004.

GILLASPY, G.; BEN-DAVID, H.; GRUÍSSEM, W. Fruits: A Developmental Perspective. **The Plant Cell**, v.5, p.1439-1451, 1993.

GOODMAN & KRUSKAL *Measures of Association for Cross Classifications*, Springer-Verlag. **Journal American Statistical Association**, v.54, p.123-163, 1954.

GOULAO, L.F.; SANTOS, J.; SOUSA, I.; OLIVEIRA, C.M. Patterns of enzymatic activity of cell wall-modifying enzymes during growth and ripening of apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 43, p. 307–318, 2007.

GOUADO, I.; SCHWEIGERT, F.J.; EJEH, R.A.; TCHOUANGUEPAND, M.F.; CAMP, J.V. Systemic levels of carotenoids from mangoes and papaya consumed in three forms (juice, fresh and dry slice). **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, p. 1180–1188, 2007.

HUBER, D.J.; KARAKURT, Y.; JEONG, J. Pectin degradation in ripening and wounded fruits. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, v.13, n.2, p. 224-241, 2001.

IBGE - Produção Agrícola Municipal, 2002. Consultado em 15/12/2003 <http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/dadosibge.xls>. Atualizado em 05/04/2003. Consultado em 04/12/2007.

JACKMAN, R.L; STANLEY, D.W. Perspectives in the textural evaluation of plant foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.6, p.187-194, 1995.

JAYANI, R.S.; SAXENA, S; GUPTA, S.R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. **Process Biochemistry**, p.2931–2944, 2005.

JIANG, C.M.; WU, M.C.; WU, C.L.; CHANG, H.M. Pectinesterase and Polygalacturonase Activities and Textural Properties of Rubbery Papaya (*Carica papaya* Linn.). **Journal of Food Science**, v.68, n.5, p.1590-1594, 2003.

KARAKURT, Y; HUBER, D.J. Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation

during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.28, n.2, p. 219- 229, 2003.

KERR, W.L. & WICKER, L. NMR proton relaxation measurements of water associated with high methoxyl and low methoxyl pectins. **Carbohydrate Polymers**, v.42, p.133-138, 2000.

LAZAN, H. SYU-YIH, N.; GOH, L.Y.; ALI, Z.M. Papaya β -galactosidase/galactanase isoforms in differential cell wall hydrolysis and fruit softening during ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.42, p. 847–853, 2004.

LIM, Y.M. & CHUNG, M.C.M. Isolation and characterization of pectin methylesterase from papaya. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.307, n.1, p. 15-20, 1993.

LI, Y.; JONES, L.; MCQUEEN-MASON, S. Expansins and cell growth. **Current Opinion in Plant Biology**, v.6, p.603–610, 2003.

LIMA, M.S. **Isolamento da pectina em frutos e sua caracterização por espectroscopia de infravermelho**. 2007. 77f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE.

LOFGREN, C; HERMANSSON, ANNE-MARIE. Synergistic rheological behaviour of mixed HM/LM pectins gel. **Food hydrocolloids**, v.21, p. 480-486, 2007.

MACLACHLAN, G; BRADY, C. Endo-1,4 β -Glucanase, Xyloglucanase, and Xyloglucan Endo Transglycosylase Activities Versus Potential Substrates in Ripening Tomatoes. **Plant Physiology**, v.105, p.965-974, 1994.

MAHATTANATAWEE, K.; MANTHEY, K.J.A.; GARY LUZIO S.T.T.; GOODNER K.; BALDWIN, E. A. Total Antioxidant Activity and Fiber Content of Select Florida Grown Tropical Fruits. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.54, p.7355-7363, 2006.

MANRIQUE, G. D. & LAJOLO, F. M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit. (*Carica papaya*). **Postharvest Biology and Technology**, v.33, p.11–26, 2004.

MANRIQUE, G. D. & LAJOLO, F. M. FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.25, p.99–107, 2002.

MARÍN-RODRÍGUEZ, M.C.; ORCHARD, J.; SEYMOUR, G.B. Pectate lyases, cell wall degradation and fruit softening. **Journal of Experimental Botany**, v.53, n.377, p. 2115-2119, 2002.

MC CREADY, R.M. Pectin In: Joslyn, **Methods in food analysis**. 10^o ed., p. 565-595 New York: Academic Press; 1970.

MESBAHI, G.; JAMALIAN, J.; FARAHNAKY, A. A comparative study on functional

properties of beet and citrus pectins in foods systems. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.731-738, 2005.

MOHAMMED, M.; WANG, Y.; KAYS, S.J. Changes in the volatile chemistry of fresh-cut papaya (*Carica papaya* L.) during storage. **Tropical Agriculture**, v.78, n.4, p. 268-271. 2001.

MOURA, P. A. M. de; RESENDE, L. M. A. Aspectos econômicos da cultura do mamoeiro. **Informe Agropecuário**, v.12, n.134, p.3-7, 1986.

NOTHNAGEL, A.L. & NOTHNAGEL, E.A. Primary Cell Wall Structure in the Evolution of Land Plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.49, n.8, p. 1271–1278, 2007.

OLIVEIRA, M.A.B. VIANNI, R.; SOUZA, G.; ARAÚJO, T.M.R. Caracterização do estágio de maturação do papaya ‘Golden’ em função da cor. **Revista Brasileira Fruticultura**, v.24, n.2, p. 559-561, 2002.

ONO, E. O.; GRANA JÚNIOR, J. F.; RODRIGUES, J. D. Reguladores vegetais na quebra da dominância apical de mamoeiro (*carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.2, p.348-350, 2004.

PAIXÃO, J.A. & SILVA, J.L. **Caracterização de pectinas naturais por pectinametilesterase e infravermelho**. CONIC, 2005; UFPE, Recife-PE.

PAULL, R.E.; GROSS, K.; QIU, Y. Changes in papaya cell walls during fruit ripening **Postharvest Biology and Technology**, v.16, p.79–89, 1999.

PERCY, A.E.; MELTON, L.D.; JAMERSON, P.E. Xyloglucan and hemicelluloses in cell wall during apple fruit development and ripening. **Plant Science**, v.125, p. 31–39, 1997.

PEREIRA, M.E.C.; SILVA, A.S.; SANTOS, D.B.; SANTOS, S.B.; BISPO, A.S.R.; SANTOS, V.J. Amadurecimento de mamão formoso com revestimento comestível à base de fécula de mandioca. **Ciencia Agrotecnica Lavras**, v.30, n.6, p.1116-1119, 2006.

Perguntas e resposta: Mamão. Disponível em: http://www.ministeriodaagricultura.gov.br/embrapa_mandioca_e_fruticultura_tropical. Acesso em 15 de dez. de 2007.

RAMULU, P.; UDAYASEKHARA RAO, P.U. Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p. 677–685, 2003.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E.; **Biologia Vegetal**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 6º Ed. 906p, 2001.

RAGONHA, E. Estudos do mercado interno visando a comercialização do mamão (*carica papaya l.*) Dos grupos solo e formosa. **Toda Fruta** 2005. Acesso em 24 de dezembro de 2007 em <http://www.todafruta.com.br>

RIDLEY, B.L.; O'NEILL; M.A.; MOHNEN, D. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide related signaling. **Phytochemistry**, v.57, p. 929–967, 2001.

RODRIGUES-AMAYA, D.B. **Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored foods**. Campinas-SP, 1997; 88p.

SCHRODER, R.; ATKINSON, R.G.; LANGENKAMPER, G.; REDGWELL, R.J. Biochemical and molecular characterisation of xyloglucan endotransglycosylase from ripe kiwifruit. **Planta**, v.204, p.242-251, 1998.

SEYMOUR, G.B.; MANNING, K.; ERIKSSON, E.M.; POPOVICH, A.H.; KING, G.J. Genetic identification and genomic organization of factors affecting fruit texture. **Journal of Experimental Botany**, v.53, n.377, p. 2065-2071, 2002.

SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. **Biochemistry of fruit ripening**. 3^o ed. Chapman & Hall :Cambridge; 1993. 454p.

SHIGA, T.M.; LAJOLO, F.M.; FILISETTI, T.M.C.C.. Cell wall polysaccharides of common beans (*Phaseolus vulgaris L.*). **Ciência Tecnologia dos Alimentos**, v.23, n.3, p. 141-148, 2003.

SOH, C.P.; ALI, Z.M.; LAZAN, H. Characterisation of an α -galactosidase with potential relevance to ripening related texture changes. **Phytochemistry**, v.67, p.242 - 254, 2006.

SOLER, M.P.; DE MARTIN, Z.J.; FERNANDES, M.H.C.; MORI, E.E.M.; FERREIRA, V.L.P. Influência dos processos de descascamento na qualidade do purê de mamão da variedade Solo. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.1, p. 107- 123, 1985.

STEWART, D.; PEITRO, P.M.I.; DAVIES, H.V. Ripening-related changes in raspberry cell wall composition and structure. **Phytochemistry**, v.56, p. 423-428, 2001.

SOUZA, G. de. **Características físicas, químicas e sensoriais do fruto de cinco variedades de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cultivadas em Macaé-RJ**. Campos dos Goytacazes, 1998. 94 p. Tese de Mestrado.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Artmed: Porto Alegre, 3º Ed. 718p., 2006.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Oregon: O&B Books, 374p.1982.

VAN SOEST, P.J. Use of detergents in the analysis of fibrous foods. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. **Journal of the Association of the Official Analytical Chemists**, v.46, p.829-835, 1967.

VAN SOEST, P.J.; Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forage. **Journal Animal Science**, v.26, n.1, p.119-120,1967.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal Dairy Science**, v.74, n.10, p. 3583-3597, 1991.

VILLANUEVA , M.J.; TENORIO, M.D.; ESTEBAN, M.A.; MENDOZA, M.C. Compositional changes during ripening of two cultivars of muskmelon fruits **Food Chemistry**, v.87, p.179–185, 2004.

WAKABAYASHI, K. Changes in Cell Wall Polysaccharides During Fruit Ripening. **Journal Plant Research**, v.113, p. 231-237, 2000a.

WAKABAYASHI, K.; HOSON, T.; HUBER, D.J. Methyl de-esterification as a major factor regulating the extent of pectin depolymerization during fruit ripening: a comparison of the action of avocado (*Persea americana*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) polygalacturonases. **Journal. Plant Physiology**, v.160, p.667–673, 2003.

WAKABAYASHI, K; CHUN, JP; HUBER, D.H. Extensive solubilization and depolymerization of cell wall polysaccharides during avocado (*Persea americana*) ripening involves concerted action of polygalacturonase and pectinmethylesterase. **Physiologia Plantarum**, v.108, p. 345–352, 2000b.

WILLATSA, W. G.T.; KNOXB, P.J.; MIKKELSENC, J.D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, p.97–104, 2006.

YASHODA, H. M.; PRABHA, T.N.; THARANATHAN, R.N. Mango ripening—chemical and structural characterization of pectic and hemicellulosic polysaccharides. **Carbohydrate Research**, v.340, p.1335–1342, 2005.