

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS BIOATIVOS DE MAÇÃS 'GALAXY' EM FUNÇÃO DO TRATAMENTO COM 1-MCP E DO RETARDO NO RESFRIAMENTO

Resumo Expandido

Grez Roberta Oliveira Santana¹
Cristiano André Steffens²
Mayara Cristiana Stanger³
Crizane Hackbarth⁴
Cassandro Vidal Talamini do Amarante⁵
Auri Brackmann⁶

Resumo

Várias tecnologias são utilizadas para a manutenção da qualidade de maçãs armazenadas, dentre elas o rápido resfriamento dos frutos e o uso do 1-MCP. Os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante dos frutos, contudo, inexistem informações sobre o efeito do retardo do resfriamento e da aplicação de 1-MCP sobre os compostos fenólicos totais (CFT) e a atividade antioxidante total (AAT). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de 1-MCP, associado com diferentes períodos de retardo do resfriamento dos frutos, sobre o conteúdo de CFT e da AAT de maçãs 'Galaxy'. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial, combinando a aplicação de 1-MCP, com ou sem, e os tempos de retardo de resfriamento de 24 h, 48 h, 96 h, 144 h, 192 h e 240 h. Para a aplicação do 1-MCP ($1 \mu\text{L L}^{-1}$) foi utilizado o produto Smart Fresh® (0,14% de 1-MCP na formulação pó). As maçãs 'Galaxy' foram frigoconservadas por quatro meses a $1 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C/UR}$ de $92 \pm 5\%$. Após quatro meses de armazenamento refrigerado e mais sete dias de exposição dos frutos em condições ambiente, foram realizadas as análises de CFT e AAT (ABTS e DPPH), nos tecidos de casca e polpa. Os tratamentos com 1-MCP junto ao resfriamento rápido (24 e 48 h) obtiveram efeito positivo na manutenção da AAT e dos CFT na polpa e na casca. Porém a partir de 96 h foi observado efeito negativo da utilização do 1-MCP, onde os resultados indicaram uma redução da AAT e nos CFT, o que foi mais evidente na polpa dos frutos tratados em relação aos não tratados com 1-MCP. Foi observada uma relação positiva e significativa ($p < 0,05$) entre a concentração de CFT e a AAT, pelos métodos DPPH e ABTS, nos extratos da casca (0,56 e 0,62, respectivamente) e na polpa (0,89 e 0,70, respectivamente). Entre os métodos DPPH e ABTS a relação também foi positiva e significativa ($p < 0,05$) na casca e na polpa (0,55 e 0,83, respectivamente). O tratamento com 1-MCP e pré-resfriamento na maçã 'Galaxy', em 24 a 48 h após a colheita, mantém os compostos bioativos durante o armazenamento refrigerado.

¹ Discente Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC-CEO, grezroberta12@gmail.com

² Doutor, Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC /CAV, cristiano.steffens@udesc.br

³ Doutora, Universidade Federal de Uberlândia - UFU, mayara.stanger@gmail.com

⁴ Doutora, IFC, crizanehackbarth@hotmail.com

⁵ Doutor, Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC /CAV, cassandro.amarante@udesc.br

⁶ Doutor, Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, auri.brackmann@ccr.ufsm.br

Palavras-chave: compostos fenólicos, resfriamento, armazenamento, DPPH, 1-metilciclopropeno, ABTS.

Fundamentação/Introdução

Para obtenção de frutas de qualidade no mercado é necessário que além da colheita em período correto de maturação, o processo de manejo pós-colheita seja feito corretamente. Principalmente a maçã que quando não é colhida em estágio correto de maturação pode ocorrer perdas de qualidade significativas, como seu conteúdo antioxidante (Thewes et al., 2016).

Em seguida que são colhidas, as maçãs podem ficar expostas a altas temperaturas do campo, ou quando acondicionadas em galpão até o momento de transporte. A exposição a altas temperaturas pode acelerar o metabolismo do fruto, resultando em um rápido amadurecimento e até mesmo desordem fisiológica (Schmitz et al. 2017).

A utilização de refrigeração demonstrou ser um método eficiente em aumentar a durabilidade e manter a qualidade dos frutos, através da diminuição da taxa respiratória com diminuição da temperatura. Porém este método é apenas complementar, sendo necessário outros métodos de conservação junto a esse, como por exemplo o uso de 1-MCP como inibidor de etileno (Weber et al. 2017; Mosqueira et al. 2018).

O 1-metilciclopropeno (1-MCP) é um composto volátil, que quando aplicado ao fruto se liga aos receptores de etileno do tecido da fruta, fazendo com que não ocorra o processo de amadurecimento da fruta. A utilização desse inibidor de etileno é conhecido na literatura, onde com seu uso se obteve menor biossíntese de etileno e maior firmeza de polpa. Porém sua aplicação para garantir que a qualidade da fruta após a colheita seja garantida por mais tempo antes do armazenamento sob refrigeração e sua influência nos compostos bioativos da fruta, não se encontra na literatura. (Mosquera et al., 2018; Thewes et al., 2016).

Objetivos

Avaliar o efeito da aplicação de 1- metilciclopropeno (1-MCP), adjunto com diferentes períodos de retardo do resfriamento das frutas, em relação ao conteúdo de Compostos Fenólicos Totais e da Atividade Antioxidante Total de maçãs ‘Galaxy’.

Delineamento e Métodos

Amostras:

As maçãs ‘Galaxy’ utilizadas nos experimentos foram provenientes de pomar comercial localizado em Vacaria, colhidas na safra 2012/13. Após a colheita e transporte ao laboratório, procedeu-se a seleção dos frutos, eliminando-se os frutos danificados. Para homogeneizar a temperatura inicial dos frutos, as amostras foram acondicionadas durante doze horas em câmara B.O.D., na temperatura de 28 ± 1 °C.

Análises Físico-químicas:

Refrigeração e tratamento com 1-metilciclopropeno (1-MCP):

Os tratamentos originaram-se da combinação entre os fatores 1-MCP (com e sem) e diferentes períodos de resfriamento dos frutos (24 h, 48 h, 96 h, 144 h, 192 h e 240 h). Os períodos de resfriamento compreenderam o tempo decorrido até que a polpa dos frutos atingisse $1 \pm 0,2$ °C.

A aplicação do 1-MCP foi realizada após a homogeneização da temperatura dos frutos em 28 °C. Como fonte de 1-MCP foi utilizado Smart Fresh®. A dose de 1-MCP foi de 1 µL L⁻¹. Os frutos ficaram expostos ao tratamento por 24 h, imersos em solução dissolvida de 1-MCP.

Os frutos, tratados e não tratados com 1-MCP, foram submetidos aos diferentes tempos de resfriamento após o tempo de 24 h necessário para a aplicação de 1-MCP. O resfriamento dos frutos foi realizado em câmara B.O.D., com redução gradual da temperatura todos os dias, até que a polpa dos frutos atingisse a temperatura de 1±0,2 °C ao final de cada período (24 h, 96 h, 144 h, 192 h e 240 h).

Após 4 meses de armazenamento com 1±0,2 °C/UR de 92±5% e mais sete dias de prateleira, a casca de toda superfície distal do fruto foi removida com uma lâmina cortante (1 mm de espessura). A amostra de polpa foi retirada por meio de uma fatia longitudinal, de cerca de um centímetro. Imediatamente após, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer. As amostras de polpa foram processadas com triturador vertical, as amostras de casca foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido.

Análise de Atividade Antioxidante e Compostos Bioativos:

Para a obtenção do extrato foram utilizadas 20 g de polpa e 5 g de casca. A amostra foi colocada em um tubo Falcon adicionando-se 20 mL de metanol/água destilada (50:50, v/v), com posterior homogeneização em ultraturrax, em seguida foi deixado em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Após, as amostras foram centrifugadas a 12.880 g por 20 minutos a 4°C, em uma centrífuga Eppendorf. O sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL e ao resíduo da primeira extração, foram adicionados 20 mL de acetona/água destilada (70:30, v/v), com posterior homogeneização e repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. As amostras foram submetidas à nova centrifugação nas mesmas condições. O sobrenadante foi transferido para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e o volume foi completado para 50 mL com água destilada.

O conteúdo de Compostos Fenólicos Totais (CFT) foi determinado usando o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado, descrito por Roesler et al. (2007), o conteúdo de CFT foi calculado a partir da curva de calibração, preparada com ácido gálico e os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes ácido gálico por 100 g de massa fresca (mg EAG 100 g⁻¹ MF).

A Atividade Antioxidante Total (AAT) foi determinada utilizando as metodologias baseadas na capacidade do extrato de sequestrar os radicais 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (método ABTS) (RUFINO et al., 2007) e 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (método DPPH) (BRAND-WILLIANS et al., 1995).

Para o método ABTS, o radical foi gerado a partir da reação da solução estoque de ABTS (7 mM) com o persulfato de potássio (140 mM), mantido no escuro por 16 h, à 20 °C. Antes da análise, o radical foi diluído com álcool etílico até obter uma absorvância de 0,70 ± 0,05, no λ=734 nm. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível, no λ=734 nm, após 6 min de reação. Foi utilizado álcool etílico como branco para calibrar o espectrofotômetro. A partir das absorvâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, foi obtida a equação da reta. Curvas com soluções padrões de Trolox foram construídas e os resultados de AAT foram expressos em equivalente de Trolox (TEAC) por g de massa fresca (µMol TEAC g⁻¹ MF).

Para o método DPPH, o radical (0,06 mM) foi preparado no dia da avaliação, diluído em metanol. Foi transferida uma alíquota de 0,1 mL do extrato hidroalcoólico para tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH, em triplicata, com posterior

homogeneização em agitador de tubos. A medida de absorbância foi realizada no $\lambda=515$ nm, após 30 min de reação com adição da amostra. Foi utilizado álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. Curvas com soluções padrões de Trolox foram construídas, e os resultados de AAT foram expressos em $\mu\text{Mol TEAC } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$.

Análise Estatística:

Os dados de AAT e CFT (de casca e polpa) foram submetidos à análise da variância (ANOVA). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Foi realizada análise de correlação de Pearson entre as variáveis. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SAS (SAS Institute, 2002).

Resultados e Discussão

O tratamento com 1-metilciclopropeno associado ao resfriamento rápido (24 e 48 h), de maneira geral, beneficiou a manutenção da AAT e dos compostos fenólicos na polpa e na casca. A partir de 96 h de avanço no retardo no resfriamento não foi observado efeito positivo da utilização do 1-MCP, inclusive os dados indicaram que pode haver uma redução da AAT e nos compostos fenólicos, o que foi mais evidente na polpa dos frutos tratados em relação aos não tratados com o inibidor de etileno conforme a Tabela 1. Fawbush et al. (2008) relatou que maçãs armazenadas sob 1-MCP sob mesma condição de tratamento deste estudo, e ocorreu o aumento das concentrações dos compostos fenólicos na casca, em relação aos frutos sem tratamento.

Tabela 1: Conteúdo de fenóis totais ($\text{mg EAG}^a \cdot 100\text{g}^{-1}$) e AAT pelos métodos DPPH e ABTS em extrato hidroalcolico em maçãs 'Galaxy' após quatro meses de armazenamento refrigerado e mais sete dias em condições ambiente em função do retardo no resfriamento dos frutos e da aplicação do 1-metilciclopropeno (1-MCP).

Tempo de resfriamento	Fenóis Totais ($\text{mg EAG} \cdot 100\text{g}^{-1}$)		DPPH ($\mu\text{Mol de Trolox} \cdot 100\text{g}^{-1}$)		ABTS ($\mu\text{Mol Trolox} \cdot \text{g}^{-1}$)	
	1-MCP					
	-	+	-	+	-	+
Casca						
24	181,8	273,4 *	3356,2	8321,4 ***	6,3	11,3 ***
48	213,5	244,4 *	6869,3	8142,7 *	8,0	10,7 *
96	282,0	212,9 **	8678,9	6785,5 **	9,7	10,0 ns
144	277,9	242,3 *	6037,1	7042,4 ns	11,9	8,3 *
192	237,5	206,7 ns	4445,3	5232,8 ns	8,4	8,5 ns
240	252,3	242,8 ns	9245,8	8042,2 ns	12,6	8,9 ns
CV (%)	10,1	4,5	22,6	9,1	9,8	7,9
Linear	**	***	*	**	***	***
Quadrático	***	***	ns	**	ns	*
Polpa						
24	14,6	16,0 *	3945,8	4868,8 ns	5,9	11,3 ***
48	18,2	19,4 ns	4738,9	6165,2 *	6,5	11,7 ***

96	29,8	20,6	***	8291,1	7424,0	ns	13,0	11,9	ns
144	28,0	20,0	***	9637,1	6598,8	***	17,9	15,3	**
192	26,4	20,4	***	9980,6	5698,1	**	16,4	11,1	*
240	26,1	20,3	***	9232,2	6018,6	**	12,3	13,2	ns
CV (%)	3,4	4,1		6,1	9,8		11,7	4,0	
Linear	***	***		***	ns		***	**	
Quadrático	***	***		***	**		***	**	

Efeito linear e/ou quadrático do tempo de resfriamento analisado através de contrastes ortogonais polinomiais: ns = não significativo; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%; *** = significativo a 0,1%. Símbolos - = controle, e + = tratamentos com 1-MCP. Asteriscos na linha para cada temperatura compararam pelo teste F, para cada variável, o efeito do tratamento com 1-MCP em relação aos frutos não tratados. ^aEquivalente de ácido gálico. ^bAtividade Antioxidante Total Equivalente ao Trolox.

Foi observada uma relação positiva e significativa ($p < 0,05$) entre a concentração de fenóis totais e a AAT na casca medida pelos métodos DPPH e ABTS nos extratos da casca e na polpa. Entre os métodos DPPH e ABTS a relação também foi positiva e significativa ($p < 0,05$) na casca e na polpa. Conforme a literatura, a quantidade de antioxidantes é sempre maior na casca que na polpa, devido a maior quantidade de pigmentos presentes como antocianinas.

Em relação a casca pode-se observar que ocorreu aumento significativo nos tempos 24 e 48h, onde ocorreu diferença significativa entre as três análises realizadas, resultados semelhantes foram encontrados por Ma et al. (2018) em maçãs da variedade 'Janagold' tratadas com 1-MCP, onde também foi relatado um declínio dos compostos fenólicos e atividade antioxidante na fruta após longo período sob armazenamento com o inibidor de etileno.

Em relação a polpa foi observado um aumento também nos tempos 24 e 48h, e após 48h decréscimo nas atividades antioxidantes tratadas com 1-MCP, porém a capacidade sequestradora de radicais pelo método DPPH foi maior na casca que na polpa com o uso de 1-MCP, esses dados também foram obtidos por Lu et al. (2012) que maçãs apresentam maior percentual antioxidante nas casca do que na polpa após armazenamento.

Porém com a aplicação do tratamento de 1-MCP acarretou a redução da atividade antioxidante da polpa da maçã, em relação ao controle. Conforme Hoang et al. (2011), que avaliou a capacidade antioxidante em maçã 'Cripps Pink' com tratamento pós-colheita com 1-MCP, foi observado que durante o armazenamento da fruta ocorreu a diminuição da atividade antioxidante do tecido da fruta tratada com 1-MCP.

Já em relação a perda da total atividade antioxidante da fruta a partir de 96h de armazenamento também foi relatado por Kolniak-Ostek et al. (2014), que observou uma perda na atividade antioxidante de maçãs após tratamento com 1-MCP. Porém diversas podem ser as causas dessa perda, como a quantidade usada de 1-MCP e o tempo de exposição, a maturidade do fruto e cultivar.

Conclusões/Considerações Finais

O uso de 1-MCP e pré-resfriamento na maçã 'Galaxy', contribuiu na manutenção dos compostos bioativos durante o armazenamento refrigerado em 24 e 48h pós-colheita. Ocorrendo maior aumento na casca da fruta em relação a polpa, sendo que após 96h ocorreu maior redução destes compostos na polpa que na casca. Após esse período ocorreu redução da atividade desses compostos e sua capacidade de eliminação de radicais livres da polpa do fruto em relação a casca. O tratamento

com 1-MCP, refrigeração e tempo de armazenamento, exerceu diversas influências sob os compostos fenólicos e antioxidantes presentes na maçã 'Galaxy'.

Referências

- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss. Technololy**, Londres, v.28, p.25-30, 1995.
- FAWBUSH, F., J. NOCK e C. WATKINS. Teores e atividade antioxidante de maçãs 'Empire' tratadas com 1-metilciclopropeno (1-MCP) no ar e em atmosfera controlada. **Postharvest Biology and Technology**, 2009, ed. 52, p. 30–37.
- HOANG, NTT, JB GOLDING e MA WILKES. O efeito do tratamento pós-colheita 1-MCP e atmosfera de armazenamento em 'Cripps Pink' fenólicos da maçã e atividade antioxidante. **Food Chemistry**, 2011, ed. 127, p.1249-1256.
- KOLNIAK-OSTEK, J., WOJDYŁO, A., MARKOWSKI, J., SIUCIŃSKA, K. Tratamento pós-colheita de 1-metilciclopropeno e seu efeito na qualidade da maçã durante o armazenamento a longo prazo. **Food Research & Technology**, 2014, ed. 239, p. 603 – 612.
- MA, Y., BAN, Q., SHI, J., DONG, T., JIANG, C.Z., WANG, Q. 1-Methylcyclopropene (1-MCP), storage time, and shelf life and temperature affect phenolic compounds and antioxidant activity of 'Jonagold' apple. **Postharvest Biology and Technology**, 2019, ed. 150, p. 71-79.
- ROESLER, R., MALTA, L.G., CARRASCO, L.C., HOLANDA, R.B., SOUSA, C.A.S., PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. Campinas, 2007, v. 27, n. 1, p. 53-60. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000100010>> Acesso em 14 jul. 2019.
- RUFINO, MARIA DO S. M.; ALVES, RICARDO E.; BRITO, EDY S. DE.; MORAIS, SELENE M. DE.; SAMPAIO, CAROLINE DE G.; JIMÉNEZ, JARA P.; CALIXTO, FULGENCIO D. S. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. **Comunicado Técnico, n.128**. Embrapa, Fortaleza, 2007.
- STANGER, M. C., STEFFENS, C.A., SOETHE, C., MOREIRA, M. A., AMARANTE, C.V.T. DO, TANTO, V., BRACKMANN. Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante de maçãs 'Galaxy' armazenadas em atmosfera dinâmica controlada e condições de oxigênio ultrabaixo. **Postharvest Biology and Technology**, 2018, ed. 144, p. 70-76.
- THEWES, F.R., BRACKMANN, A., ANÊS, R. DE O., LUDWIG, V., SCHULTZ, E.E., SANTOS, L.F., WENDT, L.M. Efeito da atmosfera dinâmica controlada monitorada por quociente respiratório e 1-metilciclopropeno no metabolismo e qualidade da maçã 'Galaxy' colhida em três estádios de maturação. **Food Chemistry**, 2017, v. 222, p. 84-93.
- WEBER, A., THEWES, R.F., ANESE, R. DE O., AMBOS, V., PAVANELLO, E.P., BRACKMANN, A. Atmosfera dinâmica controlada (DCA): interação entre os métodos DCA e 1-metilciclopropeno na qualidade da maçã 'Fuji Suprema'. **Food Chemistry**, 2017, v. 235, p. 136-144.