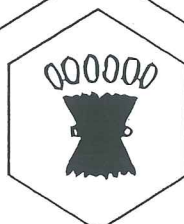
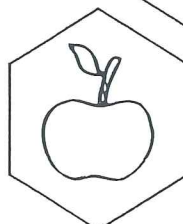
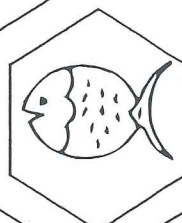
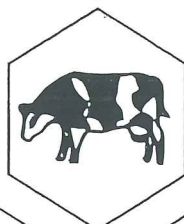
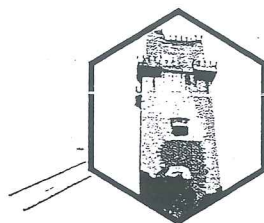


ACTAS DO 8º ENCONTRO DE QUÍMICA DOS ALIMENTOS



Alimentos Tradicionais, Alimentos Saudáveis e Rastreabilidade

Beja, Março de 2007

Instituto Politécnico de Beja
Escola Superior Agrária de Beja
Sociedade Portuguesa de Química

OS POLISSACARÍDEOS DAS PAREDES CELULARES DA AMEIXA D'ELVAS E A ACTIVIDADE DE ENZIMAS ASSOCIADAS À SUA DEGRADAÇÃO COMO PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DA MATURAÇÃO DA CONFITAGEM

*Nunes, C. *, Saraiva, S., Coimbra, M. A.*

Universidade de Aveiro, Departamento de Química,

Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro

Tel +351-234370719 Fax +351-234370084 e-mail: claudian@dq.ua.pt

Palavras-chave: Ameixa d'Elvas, polissacarídeos, pectinametilsterase, poligalacturonase, celulase

Resumo: Os polissacarídeos da parede celular de Ameixas d'Elvas ("Rainha Claudia Verde") provenientes de dois pomares de fenótipo semelhante, Vila Viçosa e Cano, mas que dão origem a ameixas confitadas com texturas muito diferentes, foram estudados, e quantificada a actividade das enzimas associadas à sua degradação. A análise dos polissacarídeos, por extracção sequencial, mostrou que as ameixas do pomar do Cano possuíam polissacarídeos pécticos mais facilmente solubilizados em água e polissacarídeos hemicelulósicos também mais solúveis em soluções alcalinas, do que as ameixas do pomar de Vila Viçosa. A quantificação das actividades das enzimas pectinametilsterase (PME), poligalacturonase (PG) e celulase (Cel) revelou que na altura da colheita para processamento, as ameixas do pomar do Cano tinham uma actividade inferior de PME e superior de PG e Cel, relativamente às do pomar de Vila Viçosa. A perda de firmeza dos frutos do pomar do Cano parece estar relacionada com um estado de maturação bioquímico mais adiantado, que não é detectável pelos parâmetros convencionais de avaliação da maturação.

1. INTRODUÇÃO

A Ameixa d'Elvas é um produto regional detentor de Denominação de Origem Protegida (DOP). Apenas as ameixas da variedade "Rainha Claudia Verde" produzidas numa área geográfica delimitada (Alto Alentejo) e num determinado estado de maturação podem ser utilizadas para a produção da Ameixa d'Elvas confitada. Contudo, dependendo do pomar, frutos com o mesmo estado de maturação (aspecto visual, sólidos solúveis totais, acidez total e acidez titulável) apresentam características de textura diferentes no produto final. Os frutos do pomar de Vila Viçosa dão origem a produtos de boa qualidade, enquanto os frutos do pomar do Cano originam produtos com menor firmeza, de qualidade inferior e reduzido valor comercial.

Os polissacarídeos das paredes celulares dos frutos estão associados à firmeza dos seus tecidos. Durante o amadurecimento dos frutos, as alterações ao nível da textura estão associadas a modificações nos polissacarídeos da parede celular, principalmente ao nível dos polissacarídeos pécticos da lamela média, provocando a degradação da parede celular e a diminuição da adesão intercelular (1,2).

Este trabalho teve como objectivo contribuir para identificar as causas que levam a que frutos aparentemente num estado de maturação igual, resultem em produtos finais de qualidade muito díspar e encontrar marcadores que distingam os frutos com qualidade para serem confitados. Com este propósito, foram extraídos sequencialmente os polissacarídeos da parede celular da polpa da ameixa dos dois pomares (Vila Viçosa e Cano), cujos resultados foram relacionados com a quantificação da actividade de enzimas associadas à sua degradação, enzimas pectinametilsterase (PME), poligalacturonase (PG) e celulase (Cel).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Neste trabalho foram utilizadas ameixas da variedade "Rainha Claudia Verde" provenientes de dois campos, um situado em Vila Viçosa e o outro no Cano (Alto Alentejo). Foram recolhidas ameixas no mesmo estado de maturação, avaliado pela quantidade de sólidos solúveis totais, acidez total e acidez titulável.

2.2. Polissacarídeos da parede celular

Os polissacarídeos da parede celular da polpa das ameixas foram extraídos sequencialmente, a partir do resíduo insolúvel em álcool (AIR), com água, imidazol, carbonato de sódio e KOH de concentração 0,5M, 1M, 4M e 8M, até obtenção de um resíduo rico em celulose (3). A quantificação dos açúcares neutros foi efectuada por GC-FID após hidrólise ácida e derivatização dos açúcares a acetatos de alditol (4,5). Os ácidos urónicos foram quantificados pelo método colorimétrico de Blumenkrantz e Asboe-Hansen (6), tal como descrito por Coimbra *et al.*

2.3. Actividade enzimática

A extracção das enzimas foi realizada com tampão Tris/HCl a pH 7,0 (para extrair a fracção solúvel das enzimas - FS) e em seguida com tampão Tris/HCl a pH 7,0 contendo NaCl 1M (para extrair a fracção das enzimas ligada ionicamente à parede celular - FI). O resíduo sólido final foi usado para quantificar a actividade da fracção das enzimas ligada covalentemente à parede celular (FC). A actividade da PME foi determinada pela titulação dos grupos carboxílicos formados por unidade de tempo, usando como substrato soluções de pectina (3,5 g/L) a pH 7 e à temperatura de 25 °C, com um titulador automático (Crison micro TT2022). A actividade da PME foi expressa como a taxa de consumo de NaOH 0,01 M ($\Delta V_{\text{NaOH}} / \Delta t$) para manter o pH a 7,0 (7). A actividade da PG foi quantificada pela formação de açúcares redutores, usando como substrato ácido poligalacturónio (4 g/L) a pH 4,4 e 35 °C, durante 10 minutos (8). A actividade de celulase foi determinada pela diminuição de viscosidade de uma solução de carboximetilcelulose 0,1 % (w/v), em tampão acetato 0,1M com pH 4, ao fim de 60 min de reacção a 30 °C. A viscosidade das soluções foi medida num viscosímetro capilar de 75 mm (tipo Cannon-Fenske) a 30 °C (9).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Polissacarídeos da parede celular

A análise de açúcares dos extractos obtidos por extracção sequencial dos polissacarídeos com soluções aquosas e concentração crescente de solução alcalina, revelou que as ameixas são constituídas principalmente por polissacarídeos pécticos, cerca de 40% nas de Vila Viçosa e 45% nas do Cano. Quer no extracto com água, que solubiliza os polissacarídeos que se encontram livres na parede celular, quer no extracto de imidazol, que solubiliza os polissacarídeos pécticos associados por pontes de cálcio, quer no extracto de carbonato, que solubiliza os associados por ligações éster, a quantidade de açúcares extraídos por fruto foi superior nas ameixas do Cano (Figura 1a). A quantidade de açúcares extraídos com soluções de concentração crescente de KOH, que solubiliza os polissacarídeos hemicelulósicos, também foi superior na polpa das ameixas do Cano em todos os extractos, excepto para o extracto obtido com a solução 1 M KOH (Figura 1b). Estes resultados permitem verificar que há uma maior facilidade na solubilização, quer dos polissacarídeos pécticos, quer dos hemicelulósicos das ameixas do Cano do que das de Vila Viçosa.

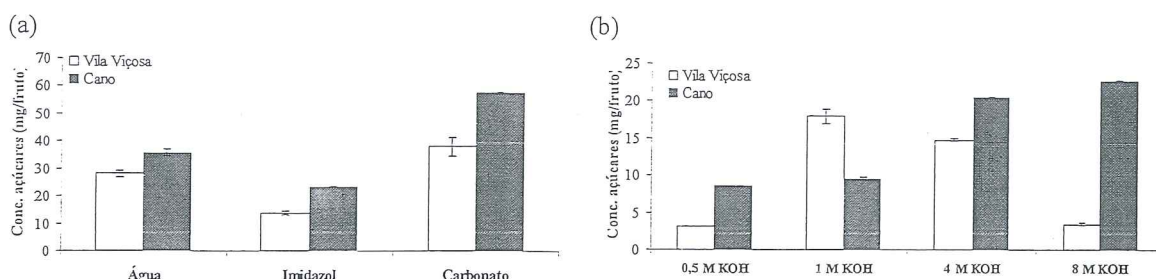


Figura 1 - Quantidade total de açúcares nos extractos com água, imidazol, carbonato (a) e KOH (b) da polpa das ameixas de Vila Viçosa e do Cano.

3.2. Quantificação da actividade das enzimas

A actividade total da PME é superior (cerca de 30%) nas ameixas de Vila Viçosa em comparação com as do Cano. Nas ameixas do Cano a actividade na FI foi superior em relação à FC, enquanto que nas ameixas de Vila Viçosa se observou o inverso (Figura 2a).

A actividade da PG foi apenas detectada na FS e FC, sendo a actividade superior na FC para as ameixas de ambos os pomares. As ameixas de Vila Viçosa apresentam uma actividade total de PG de apenas cerca de 15% da actividade quantificada nas ameixas do Cano, o que se deve principalmente à menor actividade da PG na FC das ameixas de Vila Viçosa (Figura 2b).

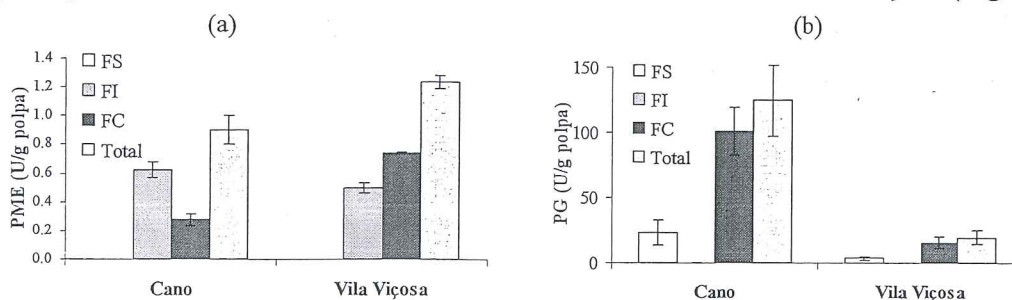


Figura 2 – Actividade da PME (a) e da PG (b) na polpa das ameixas do Cano e Vila Viçosa.

A actividade da PME e da PG, ao longo do amadurecimento dos frutos, está relacionada com a degradação dos polissacarídeos pécnicos, sendo que a actividade da PME aumenta numa fase inicial do amadurecimento, causando desesterificação das pectinas, que constituirão então o substrato da PG. Assim, a actividade da PG começa a aumentar numa fase de amadurecimento mais avançada, indicando que esta enzima poderá ser induzida pelo substrato (10). Como nas ameixas de Vila Viçosa a actividade total da PME é superior à de PG, enquanto que para as ameixas do Cano se observa o inverso, as ameixas do Cano poderão estar num estado de maturação bioquímico mais avançado (com a actividade da PME numa fase de declínio).

A actividade de Cel corresponde basicamente à enzima existente no resíduo nas ameixas dos dois pomares, Vila Viçosa e Cano. A actividade total de Cel é superior nas ameixas do Cano (Figura 3). A actividade desta enzima pode ser responsável pela solubilização dos polissacarídeos hemicelulósicos, como as xiloglucanas, pelo que a actividade superior desta enzima nas ameixas do Cano, deverá estar relacionada com a maior quantidade de polissacarídeos hemicelulósicos solúveis destas ameixas.

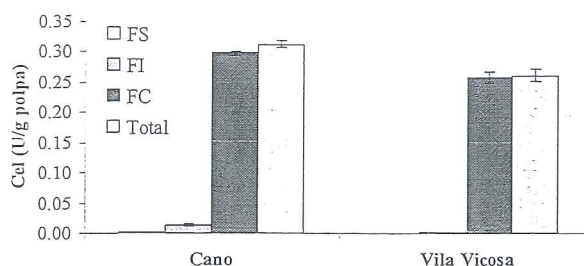


Figura 3 – Actividade de Cel na polpa das ameixas do Cano e Vila Viçosa.

4. CONCLUSÃO

As ameixas do pomar do Cano apresentam polissacarídeos pécnicos e hemicelulósicos mais facilmente solubilizados do que as de Vila Viçosa. A quantificação da actividade das enzimas PME, PG e Cel indica que as ameixas do Cano deverão estar num estado de amadurecimento bioquímico mais avançado, em que a PME já actuou. A maior actividade da PG nas ameixas do Cano indica que os polissacarídeos pécnicos deverão ter sido sujeitos de modo mais extenso à acção desta enzima. Assim, da acção da PME e PG, resultarão polissacarídeos pécnicos mais solúveis nas ameixas do Cano e da acção da Cel, resultarão polissacarídeos hemicelulósicos mais solúveis, o que é suportado pelos resultados obtidos para a quantificação dos polissacarídeos. No entanto, como segundo os parâmetros convencionalmente usados para avaliar a maturação de frutos (sólidos solúveis totais, acidez total e acidez titulável), o estado de maturação das ameixas de ambos os pomares era semelhante, é necessário identificar outros parâmetros, que permitam uma mais adequada avaliação do estado de maturação das ameixas. As características dos polissacarídeos das paredes celulares e a actividade das enzimas envolvidas na sua degradação poderão ser parâmetros interessantes para esta avaliação, permitindo a identificação do estado de maturação adequado para permitir a confitagem da Ameixa d'Elvas.

Referências

- [1] - J.P. Van Buren - J. Texture Stud. **10** (1979) 1-23
- [2] - K.W. Waldron, A.C. Smith, A.J. Parr, A. Ng, M.L. Parker - Trends Food Sci. Technol. **8** (1997) 213-221
- [3] - M.A. Coimbra, I. Delgadillo, K.W. Waldron, R.R. Selvendran - Isolation and Analysis of Cell Wall Polymers from Olive Pulp. H.F.Linskens, J.F.Jackson (ed.) - *Modern Methods of Plant Analysis*, Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg **17** (1996) 19-44
- [4] - A.B. Blakeney, P.J. Harris, R.J. Henry, B.A. Stone - Carbohydr. Res. **113** (1983) 291-299
- [5] - P.J. Harris, A.B. Blakeney, R. J. Henry, B.A. Stone - J. AOAC Int. **71** (1988) 272-275
- [6] - N. Blumenkrantz, G. Asboe-Hansen - Anal. Biochem. **54** (1973) 484-489
- [7] - C. S. Nunes, S. M. Castro, A. Van Loey, J. A. Saraiva, M. A. Coimbra, M. Hendrickx - J. Food Biochem. **30** (2006) 138-154
- [8] - K.C. Gross - HortScience **17** (1982) 933-934
- [9] - S. Lohani, P. K. Trivedi, P. Nath - Postharvest Biol. Technol. **31** (2004) 119-126
- [10] - K. Wakabayashi - J. Plant Res. **113** (2000) 231-237