



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CAMPUS II - AREIA-PB
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

RICARDO DE SOUSA NASCIMENTO

**QUALIDADE E METABOLISMO ANTIOXIDANTE DURANTE A MATURAÇÃO E
INOVAÇÃO NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE CULTIVARES DE
ABACAXI**

**AREIA
2019**

RICARDO DE SOUSA NASCIMENTO

**QUALIDADE E METABOLISMO ANTIOXIDANTE DURANTE A MATURAÇÃO E
INOVAÇÃO NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE CULTIVARES DE
ABACAXI**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor em Agronomia**, área de concentração Agricultura Tropical.

Orientadora: **SILVANDA DE MELO SILVA, Ph.D**

**AREIA
2019**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

N244q Nascimento, Ricardo de Sousa.

Qualidade e metabolismo antioxidante durante a
maturação e inovação na conservação pós-colheita de
cultivares de abacaxi / Ricardo de Sousa Nascimento. -
Areia, 2020.

87 f. : il.

Orientação: Silvanda de Melo Silva.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCA.

1. Ananas comosus var. comosus. 2. Atividade
antioxidante. 3. Manihot esculenta Crantz. 4. Qualidade
sensorial. 5. Atividade respiratória. I. Silva,
Silvanda de Melo. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(043.2)

RICARDO DE SOUSA NASCIMENTO

**QUALIDADE E METABOLISMO ANTIOXIDANTE DURANTE A MATURAÇÃO E
INOVAÇÃO NA CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE CULTIVARES DE
ABACAXI**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor em Agronomia**, área de concentração Agricultura Tropical.

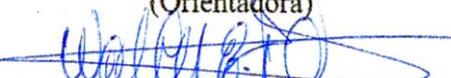
Aprovado em 23/10/2019

BANCA EXAMINADORA


SILVANDA MELO SILVA, PhD

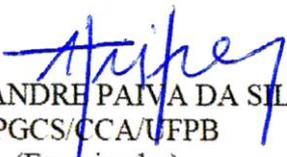
PPGA/CCA/UFPB

(Orientadora)


Dr. WALTER ESFRAIN PEREIRA,

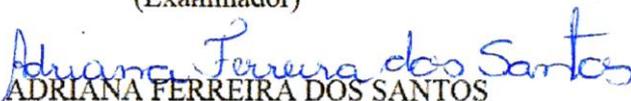
PPGA/CCA/UFPB

(Examinador)


Dr. ALEXANDRE PAIVA DA SILVA

PPGCS/CCA/UFPB

(Examinador)


Dra. ADRIANA FERREIRA DOS SANTOS

UATA/CCTA/UFCG

(Examinadora)


Dr. RICARDO ANTONIO AYUB

Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Fruticultura
(Universidade Estadual de Ponta Grossa)

Dedico...

*Aos meus pais, **Rivaldo Jerônimo Nascimento** In memória e **Maria das Graças de Sousa Nascimento**;*

*Ao meu irmão e amigo **Roberto de Sousa Nascimento**;*

A toda minha família...

*A minha tia **Terezinha Araújo Alves** In memória, aos meus primos **Daguia, Neném, Aceline, Mazinho, Leandro e Lenilson**;*

*A minha, esposa, companheira e amiga **Alba Rejane Soares Sousa**, pelo carinho, compreensão, paciência e motivação que tem me dedicado sempre, seu apoio, incentivo e amor me conduziram até aqui;*

*A **Myllena Soares**;*

*Ao pequeno **Théo Soares Sousa**, minha parte fundamental, você mesmo pequeno e sem entender as palavras que aqui falo é sem dúvidas o maior motivador e incentivador da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, que me guiou, iluminou e protegeu durante todos os dias na realização desse projeto, concedendo o dom da compreensão e paciência.

À professora **Silvanda de Melo Silva**, pela orientação;

Aos integrantes da banca examinadora, pelas contribuições e melhorias neste trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida;

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do CCA da UFPB pela oportunidade de realização do curso;

Ao meu pai **Rivaldo**, a minha mãe **Graça** e a meu irmão **Roberto** pelo incentivo e direcionamento nos estudos;

A minha esposa, companheira e amiga **Alba Rejane Soares Sousa**, pelo amor, carinho, paciência e cuidados que me tem prestado durante todos esses anos que estamos juntos. Obrigado pelas suas palavras de apoio e incentivo sempre que necessitei e por não ter me abandonado nas horas difíceis, trazendo sempre e acima de tudo uma palavra de conforto e motivação. Obrigado por tudo. Te Amo;

Ao meu filho **Théo Soares Sousa** por ser a nossa motivação de viver e por proporcionar cada vez mais dias felizes, você foi e sempre será a parte fundamental em minha vida, te amo;

A **Myllena** por ser uma pessoa especial e essencial em minha vida;

Aos meus amigos que fazem parte do Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita Saulo, Assys, Bruna, Bruno, Kagiany, Jardel, Rosana, Eduardo e Fernando pela ajuda na realização das análises e pelo apoio e incentivo sempre;

Com carinho especial a **Alex Sandro Sousa, Renato Pereira, Mariany Cruz, Vanda, Dona Rozani, Ana Lima Dantas, Renato Dantas e George** pela amizade, incentivo e companheirismo constante nos momentos de desespero e na condução do experimento. Pelos momentos de descontração e pelas palavras de incentivo e conforto;

Aos amigos conquistados durante essa longa jornada de vida, Robério, Marco Aurélio, Juliana, Tiago Aires, Lucimara, Luciana, Graça, Léo, Augusto, Júlio Cezar, Vinícius, Vandeilson, Jardelio, Vanessa, Aparecida, Wellington, Jhone, Victor Felix, Elder, Léa, Tarcísio, Lucínio Oliveira, Mirele, Luciano Pacelli, Cláudio Uyeda, Daniela Batista, Talita de Sá, Wilson Carvalho, Jarlene Dantas, Arquimedes, Patrícia, seu Mauricio, dona Neide, Jussara, Pastel, dona Beza, Cristiane, Romualdo, Carisa, Luciana, Letícia, Elma, João, Adely, Jamilly, Lourdes, Edivane, Gerciana, Aldenice, Tiago Alves (In memoria), Aragão, Ruan, Aparecida, Daniela, Alcirlene, Zé Duarte, Luiz do Padre, Ana e Nael Rosa;

Aos demais que torceram junto comigo para que esse sonho se concretizasse. Enfim a todos o meu muito obrigado.

Reconhecer e agradecer o que passou de **bom** e de **ruim** em nossa vida é um gesto simples mais que vale muito.

RESUMO GERAL

O Brasil é um produtor tradicional de abacaxi, que é amplamente consumido devido ao seu aroma e sabor agradáveis, originários de uma mistura complexa de substâncias. O principal cultivar é o Pérola, que atende ao mercado interno, mas é susceptível a fusariose, doença importante na abacaxicultura. Entretanto, visando a ampliação da oferta nos mercados, novos cultivares têm sido introduzidos, a exemplo do Vitória, que é resistente a fusariose, do qual não há informações disponíveis sobre as mudanças no metabolismo antioxidante durante a maturação. Com relação ao abacaxi 'Pérola', a sua elevada perecibilidade é agravada em decorrência do transporte a longas distâncias e deficiências nas cadeias produtivas exigindo assim estratégias inovadoras para a conservação pós-colheita. A utilização de solventes naturais eutéticos profundos (NADES) associado à dispersão de fécula de mandioca pode ser uma alternativa eficiente para a conservação pós-colheita de abacaxi 'Pérola'. Portanto, os objetivos deste trabalho, no **Experimento I**, foi avaliar a qualidade e o metabolismo antioxidante durante a maturação do abacaxi 'Vitória' e no **Experimento II**, foi usar estratégias inovadoras para a conservação pós-colheita de abacaxi 'Pérola', pelo uso de recobrimentos biodegradáveis de fécula de mandioca associado à NADES. Os delineamentos foram os inteiramente casualizados. O **experimento I**, avaliou abacaxi 'Vitória' em 6 estádios de maturação, totalmente verde (TV), verde (V), início de pigmentação (IP), verde alaranjado (VA), parcialmente alaranjado (PA) e totalmente alaranjado (TA), em quatro repetições. Em abacaxi 'Vitória' os teores de SS, AT e a relação SS/AT, β caroteno, flavonoides amarelos e polifenóis extraíveis totais e a atividade antioxidante aumentam com o avanço da maturação, principalmente no estágio PA. Abacaxis do estágio de maturação PA apresentaram menores níveis de H_2O_2 e maiores atividades da SOD e APX. Em conjunto, abacaxi 'Vitória' apresenta potencial funcional mais elevado no estágio PA. No experimento II, abacaxis 'Pérola' colhidos na maturidade comercial foram sanificados e recobertos com Fécula de mandioca a 2,5% + NADES 0,75% (NADES+F); Fécula a 2,5% + Glicerol 0,75% (F+G); Fécula a 2,5% + Glicerol 0,375% + NADES 0,375% (F+G+NADES) e o controle (sem recobrimento), em quatro repetições de um abacaxi, e armazenados na condição ambiente ($24\pm 3^\circ C$ e $74\pm 3\%$ UR) durante 20 dias. Em abacaxis recobertos com NADES+F foi reduzida a taxa respiratória, minimizada a perda de massa, manteve-se os teores de ácido ascórbico e atividade antioxidante mais elevada, sem comprometer a aceitação de aparência dos frutos, conferindo maior aceitação sensorial. Em conjunto, o recobrimento com NADES+F proporcionou a manutenção da qualidade e maior intenção de compra de abacaxi 'Pérola' durante 20 dias de armazenamento ao ambiente, caracterizando-se numa eficiente inovação na conservação pós-colheita de abacaxi.

Palavras-Chave: *Ananas comosus* var. *Comosus*. H_2O_2 . SOD. POD. APX. Atividade antioxidante. NADES. *Manihot esculenta* Crantz. Atividade respiratória. Qualidade sensorial.

GENERAL ABSTRACT

Brazil is a traditional pineapple producer, which is widely consumed due to its pleasant aroma and flavor, originating from a complex mixture of substances. The main cultivar is Pérola, which supplies the domestic market, but is susceptible to fusariosis, an important pineapple disease. However, in order to expand the offer in the markets, new cultivars have been introduced, such as Vitória, which is resistant to fusariosis, of which there is no information available about changes in antioxidant metabolism during maturation. With regard to the 'Pérola' pineapple, its high perishability is aggravated due to long distance transport and deficiencies in the production chains, thus requiring innovative strategies for postharvest conservation. The use of natural deep eutectic solvents (NADES) associated with the dispersion of cassava starch can be an efficient alternative for postharvest conservation of 'Pérola' pineapple. Therefore, the objectives of this work, for the **Experiment I**, was to evaluate the quality and antioxidant metabolism during the maturation of 'Vitória' pineapple and for the **Experiment II**, to use innovative strategies for postharvest conservation of 'Pérola' pineapple, by using of biodegradable coatings of cassava starch associated with NADES. The experimental designs were completely randomized. For the experiment I, 'Vitória' pineapple was studied in 6 maturity stages, totally green (TV), green (V), beginning of pigmentation (IP), orange green (VA), partially orange (PA) and totally orange (TA), in four repetitions. In 'Vitória' pineapple, the levels of SS, AT and the SS/AT ratio, β carotene, yellow flavonoids, total extractable polyphenols, and antioxidant activity increase as maturation advanced, especially in the PA stage. Pineapples from the PA maturity stage showed lower levels of H_2O_2 and higher activities of SOD and APX. Together, 'Vitória' pineapple presents the highest functional potential at the PA stage. In the experiment II, 'Pérola' pineapples harvested at commercial maturity were sanitized and coated with 2.5% cassava starch + NADES 0.75% (NADES + F); 2.5% starch + 0.75% Glycerol (F + G); 2.5% starch + 0.375% Glycerol + 0.375% NADES (F + G + NADES) and the control (without coating), in four repetitions of two pineapples, and stored at room condition (24 ± 3 °C and 74 ± 3 % RH) for 20 days. In pineapples covered with NADES + F, the respiratory rate was reduced, the loss of mass was minimized, the levels of ascorbic acid and higher antioxidant activity were maintained, without compromising the appearance's acceptance of fruits, giving greater sensory acceptance. Together, coating with NADES + F provided the maintenance of quality and greater purchase intention of 'Pérola' pineapple during 20 days of storage at room conditions, featuring an efficient innovation in pineapple postharvest conservation.

Keywords: *Ananas comosus* var. Comosus. H_2O_2 . SOD. POD. APX. Antioxidant activity. NADES. *Manihot esculenta* Crantz. Respiratory activity. Sensory quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I: QUALIDADE, COMPOSTOS BIOATIVOS E METABOLISMO ENZIMÁTICO DE ABACAXI CV. ‘VITÓRIA’ DURANTE A MATURAÇÃO

- Figura 1.** Índice de cor – IC da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 33
- Figura 2.** Firmeza (A), sólidos solúveis - SS (B), acidez titulável - AT (C) e relação SS/AT (D) de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 34
- Figura 3.** Teores de compostos bioativos, (A) ácido ascórbico, (B) FA - flavonoides amarelos, (C) β Caroteno e (D) PET - polifenóis extraíveis totais de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 36
- Figura 4.** Atividade antioxidante total pelas metodologias de captura dos radicais (A) ABTS^{•+} e (B) DPPH[•] de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 38
- Figura 5.** Atividade da superóxido dismutase – SOD, da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 40
- Figura 6.** Atividade da peroxidase – POD da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 41
- Figura 7.** Atividade da ascorbato peroxidase – APX, da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 42
- Figura 8.** Gel de poliacrilamida, SDS-PAGE, corado com Commassie blue, com extratos da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 1- Marcadores Moleculares (Myosin, 200 kDa; β -galactosidase, 120 kDa; Bovine Serum, 91 kDa; Glutamate, 62 kDa; Ovalbumin, 47 kDa; Carbonic Anhydrase, 37 kDa; Mioglobina, 28 kDa; Lysozyme, 19 kDa; Aprotinin, 9 kDa). 43

Figura 9. Biplot com base nos valores das variáveis e pontuação para os tratamentos dos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) originados a partir das características físicas, físico-química, atividade funcional e antioxidante enzimática e não enzimática da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 45

CAPÍTULO II: FISIOLOGIA, POTENCIAL FUNCIONAL E CONSERVAÇÃO PÓS COLHEITA DE ABACAXI ‘PÉROLA’ SOB RECOBRIMENTOS A BASE DE FÉCULA CONTENDO NADES

Figura 1. Taxa respiratória (A), Perda de massa (B) e Firmeza (C) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 8 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R)..... 64

Figura 2. Luminosidade L^* , Cromaticidade C e Ângulo Hue (°H) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R)..... 66

Figura 3. Sólido solúveis (A) e Acidez titulável (B) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R)..... 68

Figura 4. Teores de compostos bioativos, ácido ascórbico (A), flavonoides amarelos (B), fenólicos extraíveis totais – PET (C) e Atividade antioxidante total (D) pelas metodologias de captura dos radicais DPPH• de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a

associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 85 ± 5 % U.R.). 69

Figura 5. Odor estranho (A), odor característicos (B), sabor estranho (C) e sabor característicos (D) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 85 ± 5 % U.R.)..... 72

Figura 6. Escurecimento (A) e Translucidez (B) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 85 ± 5 % U.R.)..... 73

Figura 7. Intenção de compra de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 74 ± 3 % U.R.). 74

Figura 8. Cor (A) e brilho (B) das infrutescências íntegras de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 74 ± 3 % U.R.). 75

Figura 9. Presença de danos em infrutescências íntegras de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula

a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R). 76

Figura 10. Aparência (A) e Aceitação geral (B) de infrutescências íntegras de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R).77

Figura 11. Biplot com base nos valores das variáveis e pontuação para os tratamentos dos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) originados a partir das variáveis físicas, físico-químicas, atividade antioxidante e sensorial de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ recobertas com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R)..... 80

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I: QUALIDADE, COMPOSTOS BIOATIVOS E METABOLISMO ENZIMÁTICO DE ABACAXI CV. ‘VITÓRIA’ DURANTE A MATURAÇÃO

Tabela 1. Autovetores dos dois componentes principais (CP1 e CP2) para as variáveis relacionadas com as características físicas, físico-química, atividade funcional e antioxidante enzimática e não enzimática da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 44

CAPÍTULO II: FISIOLOGIA, POTENCIAL FUNCIONAL E CONSERVAÇÃO PÓS COLHEITA DE ABACAXI ‘PÉROLA’ SOB RECOBRIMENTOS A BASE DE FÉCULA CONTENDO NADES

Tabela.1. Autovetores dos dois componentes principais (CP1 e CP2) para as variáveis relacionadas com as características físicas, físico-química, atividade antioxidante e sensorial de infrutescências de abacaxizeiro ‘Pérola’ recobertas com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R). 79

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2 REFERÊNCIAS	19
CAPÍTULO I:	24
Artigo científico QUALIDADE, COMPOSTOS BIOATIVOS E METABOLISMO ENZIMÁTICO DE ABACAXI CV. ‘VITÓRIA’ DURANTE A MATURAÇÃO	24
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAL E MÉTODOS	29
<i>Origem da matéria prima e colheita</i>	29
<i>Delineamento experimental</i>	29
<i>Avaliações</i>	29
<i>Extração e atividade das enzimas antioxidantes</i>	30
<i>Análise estatística</i>	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
<i>Índice de cor (IC)</i>	33
<i>Firmeza, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (TA) e relação sólidos solúveis/acidez</i>	33
<i>Atividade antioxidante total pela captura dos radicais ABTS^{•+} e DPPH</i>	38
<i>Atividade das enzimas antioxidantes</i>	39
<i>Caracterização enzimática por SDS-PAGE</i>	42
<i>Análise de Componentes principais</i>	44
4 CONCLUSÃO	46
5 REFERÊNCIAS	47
CAPÍTULO II: Artigo científico	54
FISIOLOGIA, POTENCIAL FUNCIONAL E CONSERVAÇÃO PÓS COLHEITA DE ABACAXI ‘PÉROLA’ SOB RECOBRIMENTOS A BASE DE FÉCULA CONTENDO NADES	54
1 INTRODUÇÃO	57
2 MATERIAL E MÉTODOS	59
<i>Origem da matéria prima e colheita</i>	59
<i>Formulação do solvente natural eutéticos profundo (NADES)</i>	59
<i>Preparação dos recobrimentos biodegradáveis</i>	59
<i>Delineamento experimental</i>	60
<i>Aplicação dos recobrimentos</i>	60
<i>Avaliações</i>	60
<i>Análise sensorial</i>	61

<i>Análise estatística</i>	62
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
<i>Produção de CO₂, Perda de massa e Firmeza</i>	63
<i>Avaliação objetiva da Cor</i>	65
<i>Sólidos solúveis (SS), acidez titulável (TA)</i>	67
<i>Qualidade sensorial</i>	71
<i>Análise de Componentes principais e Correlação</i>	78
5 REFERÊNCIAS	82

1 INTRODUÇÃO GERAL

O abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*.) é uma planta perene, herbácea monocotiledônea pertencente à família das Bromeliaceae, originário da América do Sul, na região do centro e sul do Brasil, norte da Argentina e Paraguai (Hassan et al., 2011).

O cultivo do abacaxizeiro encontra-se difundido em diversas partes do mundo, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, onde está amplamente adaptada (Sun et al., 2016). O Brasil tem se destacado como segundo maior produtor mundial de abacaxi conforme a FAO, detendo uma produção de 2.694.555 toneladas por hectare em uma área de produção de 68.699 hectares, sendo a região Nordeste responsável por 40% da produção e rendimento, com destaque para o estado da Paraíba, atualmente o maior produtor do país e do Nordeste, onde o abacaxi ‘Pérola’ é o principal cultivar (EMBRAPA, 2019). Entretanto, o abacaxi ‘Pérola’ é susceptível a fusariose, doença causada pelo fungo *Fusarium guttiforme*, principal problema fitossanitário da cultura no país (Ogawa et al., 2018) doença responsável por elevadas perdas ao longo da cadeia produtiva da abacaxicultura (Dantas et al., 2015).

O principal destino da produção do abacaxi ‘Pérola’ é o mercado interno, porém este também é exportado, principalmente para o Mercosul, sendo o consumo fresco a principal forma de utilização, seguido da industrialização. A alta relevância do abacaxi se justifica pelo sabor único, aroma característico, excelente aparência e composição nutricional rica em vitaminas, minerais carboidratos e fibras (Hassan et al., 2011).

Visando contornar a fusariose, cultivares resistentes a pragas e doenças, tem sido desenvolvidas no Brasil e introduzidas nas regiões produtoras a exemplo do Vitória, oriunda do cruzamento entre dois cultivares Primavera e Smooth Cayenne que se destaca, por ser resistente à fusariose (Ogawa et al., 2018). Além disso, possui características agronômicas semelhantes ou superiores de cvs. Pérola e Smooth Cayenne. A planta tem folhas de cor verde clara e tem a vantagem de não possuir espinhos, o que facilita o cultivo. A infrutescência tem polpa amarela, forma cilíndrica e casca amarelada quando madura e pesa em média 1,5 kg. Além disso, apresenta alto teor de açúcar e excelente sabor nas análises sensoriais (Steingass et al., 2015), alegadas propriedades funcionais pela presença de fitoquímicos que conferem ainda atividade antiinflamatórias e fibrinolítica (Sun et al., 2016) o que valoriza o consumo (Lobo et al., 2017).

Nas células vivas, um status redox equilibrado é mantido principalmente pelos sistemas não enzimáticos e enzimáticos. Moléculas com alta capacidade redutora, como ácido ascórbico e compostos fenólicos, atuam diretamente no sistema antioxidante não enzimático (Allothman et al., 2009; Hossain e Rahman 2011). Essas moléculas fornecem suporte à ação

de eliminação das enzimas antioxidantes, que incluem superóxido dismutase (SOD) e ácido ascórbico peroxidase (APX) (Zhang et al., 2014; Dourado et al., 2015; Zhang et al., 2015) que com catalase (CAT)) estão envolvidos no sistema antioxidante enzimático que atua para reduzir as concentrações de espécies reativas de oxigênio (ERO) nos organismos vivos. Assim, o sistema antioxidante enzimático é um importante indicador da saúde das plantas (Barbafieri et al., 2018), por isso compreende um dos principais mecanismos desenvolvidos pelas plantas para minimizar os efeitos das ERO e manter um estado redox fisiológico nas células. A SOD desempenha um papel central na eliminação de $O_2 \bullet^-$, gerando H_2O_2 e O_2 (Noctor et al. 2014; Dourado et al. 2015). CAT, APX e peroxidase (POD) são os principais responsáveis pela eliminação de H_2O_2 e liberam H_2O e O_2 como produtos (Wu et al., 2010; Noctor et al., 2014).

Esse sistema antioxidante deve ser eficiente na manutenção de baixos níveis de ERO e na garantia da função celular (Foyer e Shigeoka 2011), principalmente sob condições de estresse, a exemplo dos resultantes do avanço da maturação (Nukuntornprakit, et al., 2015). Portanto, é de fundamental importância o estudo das mudanças no metabolismo antioxidante durante a evolução da maturação de um fruto na cadeia produtiva a exemplo do abacaxi ‘Vitória’.

No entanto, o abacaxi é uma fruta tropical altamente perecível, apresentando uma série de fatores, que limita sua comercialização incluindo desordens fisiológicas, como o escurecimento interno, translucidez e alta suscetibilidade a danos mecânicos que incide em elevadas perdas pós-colheita, decorrentes de infecções patogênicas, perda de firmeza e podridões (Hassan et al., 2011).

Portanto, o emprego de tecnologias pós-colheita inovadoras e de forma correta, como a introdução de cultivares resistentes à fusariose, como o cultivar Vitória. Além de colheitas em estádios de maturidade e períodos adequados, aliados ao uso de recobrimentos podem ser alternativas para o sucesso dessa infrutescência no mercado e prolongamento da sua vida útil pós-colheita. Porém, para que a colheita seja realizada de forma correta é necessário que as infrutescências sejam colhidas na máxima qualidade de consumo (Ding e Syazwani, 2016), uma vez que o abacaxi é uma fruta não climatérica que normalmente é colhida no estágio de maturidade comestível e não se espera nenhuma evolução significativa nas características básicas da qualidade. Dessa forma, atrasos na colheita significam que a fruta se torna mais madura (Lobo et al., 2017) o que inviabiliza seu transporte e consumo a longa distância.

Portanto, a determinação do ponto ideal de colheita, pela avaliação das mudanças durante a maturação, é crucial no fornecimento de infrutescências de alta qualidade e com

maior vida útil pós-colheita (Hidayat et al., 2012). A determinação das mudanças durante a maturação possibilita a seleção de índices de maturidade e qualidade que estejam relacionados com a máxima qualidade das infrutescências para o trânsito e consumo (Abílio et al., 2009; Léchaudel et al., 2018). Nesse sentido, estudos aprofundados das mudanças de qualidade de um abacaxi introduzidos na cadeia produtiva, a exemplo do Vitória, são de fundamental para assegurar o sucesso na região e absorção pelo mercado consumidor.

Na conservação pós-colheita, o emprego de tecnologias tem sido amplamente estudado com o intuito de aumentar a vida útil das infrutescências, com destaque para o uso de substâncias naturais como a aplicação de gases a vapor (Ong et al., 2014), armazenamento a baixas temperaturas para retardar os processos da maturação (Pan et al., 2017), o uso de reguladores vegetais (Zhang et al., 2015), atmosferas modificadas (Chiumarelli e Hubinger, 2014) e recobrimentos biodegradáveis e comestíveis (Guimarães et al., 2017, Treviño-Garza et al., 2017).

Os recobrimentos biodegradáveis têm se mostrado eficientes como barreiras na transmissão de umidade, solutos e gases fornecendo proteção mecânica (Hamzah et al., 2013; Spotti et al., 2016), podendo resultar em diminuição da taxa respiratória (Chiumarelli et al., 2011) e redução da perda de massa (Lima et al., 2012). A principal base para produção e formulação dos recobrimentos biodegradáveis e filmes para cobertura de frutos e hortaliças têm sido os polissacarídeos, de diversas naturezas como quitosana, (Chen et al., 2019), alginato (Li et al., 2017), derivados de celulose (Yan et al., 2019), proteínas de soro de leite (Basiak et al., 2019), resíduos da indústria alimentícia como cascas e sementes de abóbora (Lalnunthari et al., 2019), lipídios (Fabra et al., 2012) e amido (Li et al., 2015), principalmente os provenientes das raízes de mandioca, biopolímero renovável amplamente distribuído na natureza e composto de amilose e amilopectina (Cruz-Benítez et al., 2019). Embora possam ser obtidos a baixo custo e com facilidade, devido a sua alta disponibilidade, os filmes à base de amido exibem várias deficiências, como fragilidade, alta sensibilidade à umidade e fraca resistência mecânica, o que tem restringindo o seu uso em embalagem de alimentos (Li et al., 2015; Choi et al., 2017).

Nos últimos anos, estratégias inovadoras têm sido desenvolvidas para melhorar a resistência dos filmes e recobrimentos a base de amido, a exemplo da incorporação de aditivos em sua formulação, que otimizam a estrutura da matriz e podem, inclusive, desempenhar atividade antimicrobiana, além de ser uma alternativa eficiente no controle de reações prejudiciais à qualidade de frutos. (Guimarães et al., 2017; Treviño-Garza et al., 2017;

Zhang et al., 2017). Outra alternativa tem sido a incorporação de plastificantes, o que têm se mostrado eficazes (Li et al., 2015).

O principal plastificante utilizado nas matrizes de amido tem sido o glicerol, uma molécula pequena que ganha facilmente o acesso entre as cadeias de polissacarídeos por meio de ligações de hidrogênio, reduzindo o polissacarídeo intermolecular, promovendo assim o seu aumento. Assim, o glicerol aumenta a capacidade de resistência do filme (Jiménez et al., 2012), melhora a flexibilidade e mobilidade das cadeias poliméricas, diminui a fragilidade e melhora a estrutura e as propriedades de barreira dos recobrimentos (Silva et al., 2019; Souza et al., 2012), além de evitar o encolhimento durante o manuseio e armazenamento (Vieira et al., 2011).

No entanto, como alternativa inovadora, natural e verde a este plastificante, os solventes naturais eutéticos profundos (NADES) têm se mostrado promissores e versáteis (Tomé et al., 2018) com potencial para a substituição de solventes orgânicos convencionais derivados do petróleo, como o glicerol (Decaen et al., 2017). Os NADES são produzidos a partir de recursos renováveis e apresentam diversas vantagens, como a biodegradabilidade, não volatilidade, não inflamabilidade, baixa toxicidade, baixos custos e simples preparação (Espino et al., 2016; Lapeña et al., 2019) e podem também agir como inibidores no crescimento de fungos (Juneidi et al., 2016) características essas que facilitam sua produção com grau alimentar.

A produção de NADES se dá a partir de mistura simples de dois componentes seguros (baratos, renováveis e biodegradáveis), que são capazes de formar uma fase líquida chamada de mistura eutética (Zhang et al., 2012). Entre diversos componentes utilizados para a formulação de NADES o cloreto de colina, sal de amônio, tem sido a principal base para produção desses produtos (Tomé et al., 2018), combinados geralmente a ácidos orgânicos, que são bons doadores de hidrogênio, como o ácido ascórbico (Liu et al., 2018), ácido orgânico de extrema importância facilmente encontrado de forma natural em frutos e hortaliças e tem sido utilizado na conservação de alimentos (Rostami et al., 2019), na fabricação de embalagens inteligentes (Kour et al., 2013), por atuarem na minimização de danos ocasionados pelos radicais livres (Mditshwa et al., 2017) conferindo-lhe assim caráter funcional a esse composto.

Diante disso, a utilização de NADES como plastificante, visando a substituição do glicerol em recobrimentos biodegradáveis, é uma alternativa viável e possibilita a incorporação eficiente de moléculas de grande potencial na conservação de frutos e hortaliças, como o ácido ascórbico. Esses fatores combinados possuem grande potencial para manter a

qualidade, prevenir desordens fisiológicas, manter a segurança alimentar e a estabilidade microbiológica; no entanto, é preciso a exploração do uso de NADES como agente plastificante, bem como o seu potencial em propiciar a manutenção da qualidade e prolongamento da vida útil pós-colheita durante o armazenamento de frutos.

Neste sentido, o uso combinado desses fatores pode se constituir numa alternativa viável para a produção de recobrimentos biodegradáveis, pois possuem grande potencial para manter a qualidade, a segurança alimentar e a estabilidade microbiológica dos frutos. Além disso, os recobrimentos comestíveis são veículos excelentes para incorporar uma grande variedade de aditivos, como antioxidantes e agentes antimicrobianos (Issa et al., 2016).

Entretanto, os impactos dos recobrimentos sobre o metabolismo antioxidante do abacaxi ‘Pérola’, principalmente sob matrizes amiláceas incorporando os solventes naturais eutéticos profundos (NADES) ainda não foram avaliados.

Assim o uso destas tecnologias visa substituir materiais de embalagem sintética e o uso de agroquímicos no controle de doenças pós colheita, visando assegurar a qualidade e prolongar a vida útil de frutos e hortaliças na indústria de alimentos, podendo dessa forma ser consideradas tecnologias limpas no combate à poluição ambiental, garantindo conseqüentemente, a diminuição de perdas pós-colheita, o sucesso na comercialização e a maior aceitação do consumidor final.

2 REFERÊNCIAS

ABÍLIO, G. M. F.; HOLSCHUH, H. J.; BORA, P. S.; OLIVEIRA, E. F. D. Atividade da bromelina e análise de alguns parâmetros químicos em cultivares de abacaxi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2009.

ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A.. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 785-788, 2009.

BARBAFIERI, M.; MORELLI, E.; TASSI, E.; PEDRON, F.; REMORINI, D.; PETRUZZELLI, G. Overcoming limitation of “recalcitrant areas” to phytoextraction process: The synergistic effects of exogenous cytokinins and nitrogen treatments. **Science of The Total Environment**, v. 639, p. 1520-1529, 2018.

BASIAK, E.; LINKE, M.; DEBEAUFORT, F.; LENART, A.; GEYER, M. Dynamic behaviour of starch-based coatings on fruit surfaces. **Postharvest biology and technology**, v. 147, p. 166-173, 2019.

CHEN, R.; WU, P.; CAO, D.; TIAN, H.; CHEN, C.; ZHU, B. Edible coatings inhibit the postharvest berry abscission of table grapes caused by sulfur dioxide during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 152, p. 1-8, 2019.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M.D. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocoll.** v. 38, p. 20-27, 2014.

CHOI, I.; LEE, J. Y.; LACROIX, M.; HAN, J. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. **Food Chemistry**, v. 218, p. 122-128, 2017.

CRUZ-BENÍTEZ, M. M.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; CASTRO-ROSAS, J.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, E.; GÓMEZ-HERNÁNDEZ, E.; FONSECA-FLORIDO, H. A. Effect of amylose content and chemical modification of cassava starch on the microencapsulation of *Lactobacillus pentosus*. **LWT**, v. 105, p. 110-117, 2019.

DANTAS, A. L.; DE MELO SILVA, S.; DANTAS, R. L.; PEREIRA, W. E.; LIMA, R. P.; MENDONÇA, R. M. N.; SANTOS, D. Influence of combined sources of nitrogen fertilization on quality of cv. Vitria pineapple. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 40, p. 3814-3824, 2015.

DECAEN, P.; ROLLAND-SABATÉ, A.; GUILOIS, S.; JURY, V.; ALLANIC, N.; COLOMINES, G.; LOURDIN, D.; LEROY, E. Choline chloride vs choline ionic liquids for starch thermoplasticization. **Carbohydrate polymers**, v. 177, p. 424-432, 2017.

DING, P.; SYAZWANI, S. Physicochemical quality, antioxidant compounds and activity of MD-2 pineapple fruit at five ripening stages. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 2, p. 549, 2016.

DOURADO, M. N.; FRANCO, M. R.; PETERS, L. P.; MARTINS, P. F.; SOUZA, L. A.; PIOTTO, F. A.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant enzymes activities of Burkholderia spp. Strains - oxidative responses to Ni toxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 24, p. 19922-19932, 2015.

EMBRAPA - Embrapa Mandioca e Fruticultura- Base de Dados dos Produtos, disponível em: [http://www.cnpmf.embrapa.br/Base de Dados/index_arquivos.htm](http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_arquivos.htm), acesso em 03 de abril de 2019.

ESPINO, M.; DE LOS ÁNGELES FERNÁNDEZ, M.; GOMEZ, F. J.; SILVA, M. F. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 126-136, 2016.

FABRA, M. J.; TALENS, P.; GAVARA, R.; CHIRALT, A. Barrier properties of sodium caseinate films as affected by lipid composition and moisture content. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 3, p. 372-379, 2012.

GUIMARÃES, G. H. C.; DANTAS, R. L.; DE SOUSA, A. S. B.; SOARES, L. G.; DE SÁ MELO, R.; DA SILVA, R. S.; LIMA, R. P.; MENDONÇA, R. M. N.; Beaudry, R. M.; DE MELO SILVA, S. Impact of cassava starch-alginate based coatings added with ascorbic acid and elicitor on quality and sensory attributes during pineapple storage. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 9, p. 664-673, 2017.

HAMZAH, H. M.; OSMAN, A.; TAN, C. P.; GHAZALI, F. M. Carrageenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). **Postharvest Biology and Technology**, v. 75, p. 142-146, 2013.

HASSAN, A.; OTHMAN, Z.; SIRIPHANICH, J. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). In: **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**. Wood head Publishing. 2011, p.194-218.

HIDAYAT, T.; ABDULLAH, F. I.; KUPPUSAMY, C.; SAMAD, A. A.; WAGIRAN, A. Molecular identification of Malaysian pineapple cultivar based on internal transcribed spacer region. **APCBEE Procedia**, v. 4, p. 146-151, 2012.

HOSSAIN, M. A.; RAHMAN, SM M. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. **Food Research International**, v. 44, n. 3, p. 672-676, 2011.

ISSA, A.; IBRAHIM, S. A.; TAHERGORABI, R. Sweet potato starch/clay nanocomposite film: New material for emerging biodegradable food packaging. **MOJ Food Process Technol**, v. 3, p. 00073, 2016.

JIMÉNEZ, A.; FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Edible and biodegradable starch films: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058-2076, 2012.

JUNEIDI, I.; HAYYAN, M.; ALI, Ozair Mohd. Toxicity profile of choline chloride-based deep eutectic solvents for fungi and *Cyprinus carpio* fish. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 8, p. 7648-7659, 2016.

KOUR, H., WANI, N. A. T., MALIK, A., KAUL, R., CHAUHAN, H., GUPTA, P., BHAT, A. Advances in food packaging—a review. **Stewart Postharvest Review**, v. 9, n. 4, p. 1-7, 2013.

LALNUNTHARI, C.; DEVI, L. M.; AMAMI, E.; BADWAIK, L. S. Valorisation of pumpkin seeds and peels into biodegradable packaging films. **Food and Bioproducts Processing**, v. 118, p. 58-66, 2019.

LAPEÑA, D.; LOMBA, L.; ARTAL, M.; LAFUENTE, C.; GINER, B. The NADES glyceline as a potential Green Solvent: A comprehensive study of its thermophysical properties and effect of water inclusion. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 128, p. 164-172, 2019.

LÉCHAUDEL, M.; DARNAUDERY, M.; JOËT, T.; FOURNIER, P.; JOAS, J. Genotypic and environmental effects on the level of ascorbic acid, phenolic compounds and related gene expression during pineapple fruit development and ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 130, p. 127-138, 2018.

LI, S.; ZHANG, L.; LIU, M.; WANG, X.; ZHAO, G.; ZONG, W. Effect of poly- ϵ -lysine incorporated into alginate-based edible coatings on microbial and physicochemical properties of fresh-cut kiwifruit. **Postharvest biology and technology**, v. 134, p. 114-121, 2017.

LIU, W.; ZHANG, K.; CHEN, J.; YU, J. Ascorbic acid and choline chloride: A new natural deep eutectic solvent for extracting tert-butylhydroquinone antioxidant. **Journal of Molecular Liquids**, v. 260, p. 173-179, 2018.

LIMA, A.B.; SILVA S.M.; ROCHA, A.; NASCIMENTO, L.C.; RAMALHO, F.S. Conservação pós-colheita de manga "Tommy Atkins" orgânica sob recobrimentos bio-orgânicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 3, p. 704-710, 2012.

LOBO, M.G.; YAHIA, E. Biology and postharvest physiology of pineapple. **Handbook of Pineapple Technology: Production, Postharvest Science, Processing and Nutrition**, p. 39-61, 2017.

MDITSHWA, A.; MAGWAZA, L. S.; TESFAY, S. Z.; OPARA, U. L. Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: a review. **Scientia Horticulturae**, v. 218, p. 95-104, 2017.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; FOYER, C. H. The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. **Plant physiology**, v. 164, n. 4, p. 1636-1648, 2014.

NUKUNTORNPRAKIT, O. A.; CHANJIRAKUL, K.; VAN DOORN, W. G.; SIRIPHANICH, J. Chilling injury in pineapple fruit: Fatty acid composition and antioxidant metabolism. **Postharvest biology and technology**, v. 99, p. 20-26, 2015.

OGAWA, E. M.; COSTA, H. B.; VENTURA, J. A.; CAETANO, L. C.; PINTO, F. E.; OLIVEIRA, B. G.; BARROSO, M. E. S.; SCHERER, R.; ENDRINGER, D. C.; ROMÃO, W. Chemical profile of pineapple cv. Vitória in different maturation stages using electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 3, p. 1105-1116, 2018.

ONG, M. K.; ALI, A.; ALDERSON, P. G.; FORNEY, C. F. Effect of different concentrations of ozone on physiological changes associated to gas exchange, fruit ripening, fruit surface quality and defence-related enzymes levels in papaya fruit during ambient storage. **Scientia Horticulturae**, v. 179, p. 163-169, 2014.

PAN, Y. G.; YUAN, M. Q.; ZHANG, W. M.; ZHANG, Z. K. Effect of low temperatures on chilling injury in relation to energy status in papaya fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 125, p. 181-187, 2017.

ROSTAMI, A.M.; Kiani, F.; Saraei, A. G. H.; Koohyar, F.; Omran, M. M. Measurement of thermophysical properties of binary system of (water + ascorbic acid) and ternary systems of (water + ascorbic acid + glycerol) and (water + ascorbic acid + D-sorbitol) at T = 293.15 K to 323.15 K and atmospheric pressure. **Journal of Molecular Liquids**, v. 281, p. 471 – 479, 2019.

SILVA, O. A.; PELLÁ, M. G.; PELLÁ, M. G.; CAETANO, J.; SIMÕES, M. R.; BITTENCOURT, P. R.; DRAGUNSKI, D. C. Synthesis and characterization of a low solubility edible film based on native cassava starch. **International journal of biological macromolecules**, v. 128, p. 290-296, 2019.

SOUZA, A. C.; BENZE, R. F. E. S.; FERRÃO, E. S.; DITCHFIELD, C.; COELHO, A. C. V.; TADINI, C. C. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT-Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 110-117, 2012.

SPOTTI, M. L.; CECCHINI, J. P.; SPOTTI, M. J.; CARRARA, C. R. Brea Gum (from *Cercidium praecox*) as a structural support for emulsion-based edible films. **LWT-Food Science and Technology**, v. 68, p. 127-134, 2016.

STEINGASS, C.B.; CARLE, R.; SCHMARR, H.G. Ripening-dependent metabolic changes in the volatiles of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) fruit: I. Characterization of pineapple aroma compounds by comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p 2591–2608, 2015.

SUN, G. M.; ZHANG, X. M.; SOLER, A.; MARIE-ALPHONSINE, P. A. Nutritional composition of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.). In: **Nutritional composition of fruit cultivars**. Academic Press, 2016. p. 609-637.

TOME, L. I.; BAIÃO, V.; DA SILVA, W.; BRETT, C. M. Deep eutectic solvents for the production and application of new materials. **Applied Materials Today**, v. 10, p. 30-50, 2018.

TREVIÑO-GARZA, M. Z.; GARCÍA, S.; HEREDIA, N.; ALANÍS-GUZMÁN, M. G.; ARÉVALO-NIÑO, K. Layer-by-layer edible coatings based on mucilages, pullulan and chitosan and its effect on quality and preservation of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). **Postharvest biology and technology**, v. 128, p. 63-75, 2017.

VIEIRA, M. G. A.; DA SILVA, M. A.; DOS SANTOS, L. O.; BEPPU, M. M. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47, n. 3, p. 254-263, 2011.

WU, G. L.; CUI, J.; TAO, L.; YANG, H. Fluroxypyr triggers oxidative damage by producing superoxide and hydrogen peroxide in rice (*Oryza sativa*). **Ecotoxicology**, v. 19, n. 1, p. 124, 2010.

YAN, J.; LUO, Z.; BAN, Z.; LU, H.; LI, D.; YANG, D.; AGHDAM, M. S.; LI, L. The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage. **Postharvest biology and technology**, v. 147, p. 29-38, 2019.

ZHANG, F.; WAN, X.; ZHENG, Y.; SUN, L.; CHEN, Q.; ZHU, X.; LIU, M. Effects of nitrogen on the activity of antioxidant enzymes and gene expression in leaves of *Populus* plants subjected to cadmium stress. **Journal of plant interactions**, v. 9, n. 1, p. 599-609, 2014.

ZHANG, Q.; LIU, Y.; HE, C.; ZHU, S. Postharvest exogenous application of abscisic acid reduces internal browning in pineapple. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 22, p. 5313-5320, 2015.

ZHANG, Q.; VIGIER, K. D. O.; ROYER, S.; JEROME, F. Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 21, p. 7108-7146, 2012.

ZHANG, X.; XIAO, G.; WANG, Y.; ZHAO, Y.; SU, H.; TAN, T. Preparation of chitosan-TiO₂ composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications. **Carbohydrate polymers**, v. 169, p. 101-107, 2017

CAPÍTULO I:

**Artigo científico QUALIDADE, COMPOSTOS BIOATIVOS E METABOLISMO
ENZIMÁTICO DE ABACAXI CV. 'VITÓRIA' DURANTE A MATURAÇÃO**

**Trabalho em fase de revisão final pelos autores para submissão em periódico
(Qualis/Capes B1 Ciências Agrárias I)**

QUALIDADE, COMPOSTOS BIOATIVOS E METABOLISMO ENZIMÁTICO DE ABACAXI CV. 'VITÓRIA' DURANTE A MATURAÇÃO

RESUMO

O abacaxi é uma infrutescência que necessita ser colhida no estágio de máxima qualidade por ser uma espécie não-climatérica e a determinação do ponto ideal de colheita é crucial na obtenção de infrutescências de alta qualidade, pois estágios avançados de maturação inviabiliza o seu transporte, possuem um vasto conteúdo nutricional e energético que proporcionam defesas contra radicais livres e espécies reativas de oxigênio por meio de mecanismos enzimáticos. Neste sentido, objetivou-se no presente trabalho avaliar as mudanças nas características de qualidade, nos compostos bioativos e na atividade antioxidante e metabolismo antioxidante durante a maturação de infrutescências de abacaxi cv Vitória. Utilizou-se infrutescências de abacaxizeiro (*Ananas comosus*) cultivar Vitória, oriundas de plantio comercial em cinco estágios de maturação: totalmente verde (TV), verde (V), início de pigmentação (IP), verde alaranjado (VA), parcialmente alaranjado (PA) e totalmente alaranjado (TA). A firmeza do abacaxi 'Vitória' foi mais elevada em infrutescências dos estágios de maturação TV, V, IP, com diminuição da firmeza da polpa dos frutos devido ao avanço do processo de maturação. Os sólidos solúveis (SS) das infrutescências tenderam a aumentar em função dos estágios de maturação, de modo que abacaxis nos estágios de maturação VA, PA e TA apresentaram os maiores teores de SS, cerca de 20%. A acidez titulável (AT) foi maior nas infrutescências do estágio de maturação TA, que se assemelham aos reportados na literatura, o teor de ácido ascórbico foi maior nas infrutescências dos estágios de maturação TV e V, os teores de flavanoides amarelos (FA) foram superiores no estágio de maturação parcialmente alaranjado (PA), os teores de β -Caroteno variaram conforme o estágio de maturação, os polifenóis extraíveis totais (PET) nos estágios de maturação VA e PA foram superiores aos demais estágios e a atividade antioxidante pela captura do radical ABTS•+ (ABTS•+) em infrutescências de abacaxizeiro 'Vitória' foi maior nos estágios V, IP e PA. O desenvolvimento e a maturação do abacaxi envolvem mudanças nos níveis de enzimas ligadas à metabolismo antioxidante, como POD e APX. A análise de componentes principais explicou 72,85% da variância entre os estágios de maturação com apenas dois componentes principais. As mudanças na coloração durante a maturação das infrutescências foram claramente demonstradas, o abacaxi 'Vitória' aumentou os teores de FA e PET de acordo com o avanço de maturação com destaque para o estágio de maturação parcialmente alaranjado (PA), a atividade da peroxidase (POD) foi maior nas infrutescências de abacaxi 'Vitória' no estágio de maturação TA e o peso molecular das enzimas antioxidantes em abacaxi 'Vitória' em diferentes estágios de maturação foi estimado em 47 kDa POD, 28 kDa SOD e 37 kDa APX e foram mais fortemente expressas nos estágios PA e TA; TA; e TA, respectivamente

Palavras-chave: *Ananas comosus* var. *Comosus*. Relação SS/AT. Ácido ascórbico. β -caroteno. Flavonoides amarelos. Polifenóis extraíveis totais. Atividade antioxidante. Atividades da SOD, POD, APX.

ABSTRACT

Pineapple fruit is an infructescence that needs to be harvested at the highest quality stage as it is a non-climacteric fruit and the determination of the ideal point of harvest is crucial in obtaining high quality of the fruit. As advanced maturation make their transport unfeasible, they have a vast nutritional and energetic content that provide defenses against free radicals and reactive oxygen species through enzymatic mechanisms. In this sense, the objective of this study was to evaluate the changes in quality characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity and antioxidant metabolism during the maturation of pineapple cv. Pineapple (*Ananas comosus*) fruit cv. Vitória were harvested at five maturity stages: totally green (TG), green (G), beginning of pigmentation (BP), orange green (OG), partially orange (PO) and completely orange (CO). The firmness of the 'Vitória' pineapple were higher in fruits of the TG, G, and BP maturity stages, with a decrease in the firmness of the fruit pulp due to the advance of the ripening process. The soluble solids (SS) tended to increase as a function of the maturity stages, so that fruit in the OG, PO, and CO stages presented the highest SS contents, about 20%. The titratable acidity (TA) values were higher in the CO fruit, which was similar to those reported in the literature. The ascorbic acid content was higher in the TG and G fruits. The yellow flavonoid (YF) contents were higher in the partially orange maturity stage (PO), the levels of β -Carotene varied according to the maturity stage, the total extractable polyphenols (TEP) in the OG and PO were higher than the other maturity stages and the antioxidant activity in pineapples 'Vitória' by capturing the radical ABTS^{•+} (ABTS^{•+}) was higher in G, BP and PO stages. The development and maturation of pineapple involved changes in the levels of enzymes related to the antioxidant metabolism, such as POD and APX. The principal component analysis explained 72.85% of the variance between the maturity stages with only two principal components. The changes in color during the maturation of the fruit were clearly demonstrated. The levels of YF and TEP in pineapple 'Vitória' increased according to the advance in the maturation, with emphasis on the stage of PO. The peroxidase activity (POD) was higher in fruits at CO stage. The molecular weight of antioxidant enzymes in 'Vitória' pineapple at different maturity stages were estimated in 47 kDa for POD, 28 kDa for SOD, and 37 kDa for APX and were more strongly expressed in the PO and CO; CO; and CO stages, respectively.

Keywords: *Ananas comosus* var. Comosus. Ascorbic acid. β -carotene. Yellow flavonoids. Antioxidant activity. SOD, POD, APX activities.

1 INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus* var. *Comosus*) é uma infrutescência que necessita ser colhida no estágio de máxima qualidade (Ding e Syazwani, 2016). Para assegurar a aceitação do consumidor. Pela sua natureza não-climatérica, os processos bioquímicos e fisiológicos durante a maturação, responsáveis pela qualidade do abacaxi ocorrem somente enquanto o fruto está ligado a planta (Moyle et al., 2005). Portanto, a determinação do ponto ideal de colheita é crucial na obtenção de infrutescências de alta qualidade e com maior vida útil após a colheita (Hidayat et al., 2012). A determinação das mudanças durante a maturação possibilita a definição de índices de maturidade que estejam relacionados com a máxima qualidade sensorial, nutricional e funcional das infrutescências (Abílio et al., 2009; Léchaudel et al., 2018).

A colheita do abacaxi em estádios avançados de maturação inviabiliza o seu transporte, devido à baixa firmeza das infrutescências (Lobo et al., 2017), sendo dessa forma, encaminhadas geralmente para os mercados locais nos quais são absorvidos pelos consumidores de regiões circunvizinhas da produção e utilizados majoritariamente como fruta fresca ou pelas agroindústrias (Steingass et al., 2015). O estágio de maturação verde-maduro é o mais indicado para a colheita do abacaxi a ser transportado para longas distâncias, uma vez que possuem maior firmeza, proporcionando maior estabilidade mecânica e maior vida útil pós-colheita (Steingass et al., 2014). Entretanto, visando o prolongamento da vida útil pós-colheita este estágio de maturação deve ser bem definido para os novos cultivares introduzidos.

As mudanças na coloração da casca do abacaxi, que evolui de verde a amarela ou amarelo-alaranjado, tamanho e forma do fruto (Abílio et al., 2009), sólidos solúveis, acidez, compostos bioativos e defesas antioxidantes (Léchaudel et al., 2018) são atributos que têm sido utilizados na valorização e indicação do estágio de colheita ideal das infrutescências de abacaxi, visando sua valorização como fruta in natura.

Infrutescências de abacaxi são altamente cultivadas e valorizadas em regiões tropicais e subtropicais, sendo reconhecidas como importantes alimentos para a dieta humana devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Poiroux-Gonord et al., 2010). *Ananas comosus* possui um vasto conteúdo nutricional e energético com altas concentrações de carboidratos, minerais e metabólitos secundários que engloba compostos bioativos tais como, carotenóides, ácido ascórbico, flavanoides e fenólicos que desempenham atividade antioxidante (Montero-Calderón et al., 2010; Arathi et al., 2017). Esses compostos

proporcionam defesas contra radicais livres e espécies reativas de oxigênio por meio de mecanismos enzimáticos que incluem a superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX) enzimas chaves do metabolismo antioxidante enzimático (Apel e Hirt, 2004). No entanto, esses compostos e a expressão de enzimas podem ser diferencial, bem como estes compostos podem sofrer alterações de acordo com os estádios de maturação das infrutescências ao longo das fases finais do desenvolvimento (Ogawa et al., 2018).

O abacaxi cv. Vitória oriunda do cruzamento entre duas variedades de abacaxizeiro (cv. Primavera e Smooth Cayenne), apresenta-se como alternativa agrônômica a problemas fitossanitários, pois é uma cultivar resistente à fusariose, doença limitante à cultura (Ogawa et al., 2018) apresenta ainda resistência ao transporte, ao armazenamento pós-colheita e por possuir características agrônômicas, nutricionais e fisiológicas semelhantes ou superiores aos das cultivares já estabelecidas no mercado (Ventura et al., 2009). Entretanto, para nosso conhecimento não existem trabalhos descrevendo as mudanças da qualidade durante a maturação, principalmente as que se referem ao metabolismo antioxidante dos frutos. Estas informações são determinantes para definição do ponto de colheita mais adequado, visando maior valorização deste fruto para os mercados potenciais, com base em alegações bem embasadas no metabolismo antioxidante.

Assim, configura-se que a produção brasileira se mostra com alta aptidão para exploração de novas cultivares com características agrônômicas promissoras, bem como com características de qualidade e potencial funcional diferenciados, visando os nichos de mercados mais competitivos economicamente e demandantes de diferenciais de qualidade, a exemplo da exportação. Entretanto, é necessário estabelecer parâmetros que caracterizem a maturação e a fisiologia do fruto indicando o ponto ideal para colheita, transporte, armazenamento e estágios de maturação com maior capacidade funcional, visando agregar valor e produção de infrutescências com maior potencial de mercado.

Neste sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar as mudanças nas características de qualidade, nos compostos bioativos, na atividade antioxidante e metabolismo antioxidante durante a maturação de infrutescências de abacaxi cv. Vitória.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Origem da matéria prima e colheita

Infrutescências de abacaxizeiro cultivar ‘Vitória’, oriundas de plantio comercial submetido aos tratos culturais usuais, foram colhidos manualmente na Fazenda Quandu, município de Itapororoca, Paraíba, Brasil e selecionadas utilizando-se como critérios os estádios de maturação totalmente verde (TV), verde (V), início de pigmentação (IP), verde alaranjado (VA), parcialmente alaranjado (PA) e totalmente alaranjado (TA). Após a colheita, as infrutescências correspondentes de cada estádios foram acondicionadas em caixas de polietileno e transportados ao laboratório. No Laboratório, as infrutescências foram lavadas em água corrente e sanitizados com solução de hipoclorito de sódio.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo avaliados infrutescências de seis estádios de maturação, com três repetições, compostas por 10 infrutescências de cada estádio de maturação, para as avaliações físicas e físico-químicas.

Avaliações

Diferença de cor (ΔE) e Índice de cor (IC) - Os parâmetros de cor Luminosidade L^* , Cromaticidade C e Ângulo Hue ($^\circ H$) foram obtidos a partir de duas leituras objetivas na região equatorial da superfície da polpa das infrutescências usando colorímetro digital Minolta. O índice de cor (IC) que indica o grau de variação do verde para o amarelo foi calculado conforme (Motta et al., 2015) pela equação:

$$IC = \frac{2000a}{L \sqrt{(a)^2 + (b)^2}}$$

Firmeza, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (TA) e relação SS/TA - A firmeza (N) foi determinada através do penetrômetro manual Magness Taylor Pressure Tester em duas leituras equidistantes na região equatorial das infrutescências (Lima et al., 2012). Os sólidos solúveis (SS) foram determinados por leitura direta com refratômetro tipo Abbe com controle de temperatura (20 °C) (IAL, 2008). Acidez titulável (AT) foi determinada por titulometria com solução de NaOH 0,1M, sendo os resultados expressos em g ácido cítrico/100g de polpa fresca (IAL, 2008). A relação SS/TA foi obtida mediante divisão dos índices de SS pelos resultados de TA (Lima et al., 2012).

O teor de ácido ascórbico - Foi determinado por titulação com solução de DFI (2,6-diclorofenolindofenol 0,002%) até que a cor rosa se mantivesse por 15s, os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de polpa fresca (AOAC, 2005).

Teor de flavonoides amarelos - os teores de flavonoides amarelos foram determinados de acordo com Francis (1982) e os resultados foram expressos em mg 100g⁻¹.

Carotenóides - A extração e determinação dos carotenoides foram baseadas no método descrito por Wright e Kader (1997), com as seguintes adaptações: utilizou-se 7,0 g da polpa adicionado de 5,0 mL de etanol (gelado), a qual foi homogeneizada com Ultra-Turrax a 10000 rpm por 1 min, a esta mistura foi adicionado 8,0 mL de hexano, a qual foi homogeneizada novamente por 3 min, centrifugou-se por 10 minutos a 9000 rpm, o sobrenadante foi recolhido e ao resíduo adicionou-se 5 mL de NaCl saturado adicionado de 8 mL de hexano, que foi homogeneizado e centrifugado, como descrito anteriormente. O segundo extrato foi adicionado ao primeiro e homogeneizados. As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro a 454 nm, e expressa em µg β-caroteno g⁻¹.

Extrato fenólico e Polifenóis extraíveis totais - o extrato fenólico para determinação dos polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante foi obtido conforme metodologia utilizada por Dantas et al. (2015), sendo utilizado cinco g de polpa de abacaxi 'Vitória'. Os polifenóis extraíveis totais (PET) foram obtidos por uma alíquota de 200 µL mL⁻¹ do extrato fenólico, os resultados foram calculados com base na linearidade da curva padrão de ácido gálico (0 a 50 mg g⁻¹) e expressos como equivalentes de ácido gálico (GAE) mg 100 g⁻¹.

Atividade antioxidante total por ABTS^{•+} DPPH[•] - A atividade antioxidante total (AAT) foi determinada pela captura do radical livre ABTS^{•+} de acordo com (Dantas et al. 2015). Onde a partir do extrato fenólico foram preparadas três diluições de 100, 200 e 300 µL, em triplicata e adicionados 3 mL do radical ABTS^{•+} previamente ajustado com etanol P.A. para uma absorbância de 700 ±0,05. As amostras foram lidas a 734 nm em espectrofotômetro, após 6 minutos da adição do radical. Foi utilizada uma curva padrão Trolox e os resultados foram expressos em µM de Trolox g de polpa fresca⁻¹ (Dantas et al., 2015).

A atividade antioxidante total (AAT) pela captura do radical livre DPPH[•] (1,1'-diphenil-2-picrilhidrazil) de acordo com (Dantas et al. 2015). Onde uma alíquota de 100 µL foi retirada de três diluições (200, 600 e 1000 µL/mL) em triplicata, ao qual foram adicionados 3,9 mL do radical (0,06mM). Como controle, foram utilizados 100 µL da solução de controle (álcool metílico 50% + 70% de acetona + água, razão 4: 4: 2) em vez de extrato fenólico. As leituras foram realizadas a 515 nm em espectrofotômetro, 30 minutos após a adição do radical DPPH[•], e considerando a estabilização da absorbância como base. A atividade antioxidante total (g de polpa. g DPPH⁻¹) foi calculada estimando EC₅₀ (quantidade da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH[•]).

Extração e atividade das enzimas antioxidantes

Todos os ensaios enzimáticos foram determinados pelo mesmo extrato. Duas gramas de polpa foram homogeneizadas com 5 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), contendo 0,1 mM de EDTA e 1% de PVP. Na sequência, a solução foi centrifugada a 9000 rpm durante 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi usado nas análises enzimáticas.

A concentração de proteína dos extratos enzimáticos foi determinada conforme (Bradford, 1976), com leituras a 595 nm e curva padrão de bovine serum albumin-BSA (2,5 a 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

A atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) - foi determinada pela capacidade de inibição da redução fotoquímica do tetrazólio nitroazul (NBT) conforme Lv et al. (2011). A mistura de reação (1,5 mL) continha 50 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,8), 13 mM de metionina, 100 mM de EDTA, 2 μM de riboflavina, 75 μM de NBT e 50 μL do extrato enzimático. A riboflavina foi adicionada por último, e a reação foi iniciada ligando duas luzes de 30W, permanecendo assim por 10 minutos. A atividade da enzima foi mensurada a 560 nm e uma unidade de SOD foi definida como a quantidade necessária de enzima que inibe a fotorredução de NBT em 50% (U mg^{-1} proteína), sob essas condições experimentais.

A atividade da Peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) - foi determinada com base na oxidação do guaiacol utilizando H_2O_2 e coeficiente de extinção de $26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, segundo método de Wu et al. (2010). A mistura de reação continha 1,2 mL de tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), 0,1 mL de peróxido de hidrogênio 0,5 M, 0,1 mL de guaiacol 3% e 0,1 mL do extrato enzimático. O aumento da absorbância foi acompanhado por 60 segundos a 25 °C e 470 nm. Uma unidade de atividade da POD foi definida como a quantidade de enzima que catalisa a peroxidação de 1 μmol de guaiacol por miligrama de proteína por minuto (U mg^{-1} proteína).

A atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) - foi determinada conforme Yang et al. (2009). A mistura de ensaio (1,5 ml) continha 50mM de tampão de fosfato de potássio (pH 7,0), 1 mM de peróxido de hidrogênio, 0,45mM de ácido ascórbico e 100 μL de extrato enzimático. O decréscimo de absorbância a 290 nm foi acompanhado durante 3 minutos e a atividade enzimática foi calculada com o coeficiente de extinção de $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Uma unidade de atividade da APX foi definida como a quantidade de enzima que oxida 1 μmol de ácido ascórbico por minuto por mg proteína (U mg^{-1} proteína), sob essas condições experimentais.

Perfil eletroforético de proteínas por SDS-PAGE - foi utilizada para verificar a expressão de proteínas da amostra com base no peso molecular das proteínas de acordo com o método

descrito por Laemmli (1970). Para a separação, foi utilizado um gel SDS com 12,5% de poliacrilamida e para concentração, utilizou-se gel com 3,5% de poliacrilamida. A enzima purificada foi tratada com SDS a 10% e b-mercaptoetanol durante 10 min a 100 °C e depois submetida a uma condição de desnaturação por meio de uma corrente constante de 25 mA por aproximadamente 3 horas. O tampão de corrida foi constituído de solução tampão Tris-HCl 0,25 M, pH 8,3, contendo glicina 1,92 M e SDS 1%. Após a corrida, o gel foi corado em Commassie brilliant blue R-250. A remoção do excesso de corante do gel foi com a solução descorante de ácido acético, metanol e água (10:45:45 v/v). Para estimar o peso molecular das proteínas, aplicou-se 10 µL de marcador molecular de ampla faixa de proteínas conhecidas (Myosin, 200 kDa; β-galactosidase, 120 kDa; Bovine Serum, 91 kDa; Glutamate, 62 kDa; Ovalbumin, 47 kDa; Carbonic Anhydrase, 37 kDa; Mioglobina, 28 kDa; Lysozyme, 19 kDa; Aprotinin, 9 kDa).

Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos (estádio de maturação) comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando o software SISVAR[®] 9.3 (2011) para a realização dessas análises.

Realizou-se ainda Análises de Componentes Principais (ACP) e Análise de Agrupamento a partir dos escores calculados na ACP. Para selecionar os CP utilizou-se o critério de Jolliffe (2002) e variância acumulada mínima de 70%. A análise de agrupamento foi realizada a partir do procedimento cluster.Sim do R[®] em que o número ótimo de grupos é definido combinando-se diferentes fórmulas de normalização, medidas de distância, métodos de cluster e Calinski-Harabasz index.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Índice de cor (IC)

As alterações na coloração da polpa das infrutescências do abacaxi ‘Vitória’ foram descritas pelo índice de cor (IC), sendo os maiores ICs os das infrutescências dos estádios de maturação PA. As infrutescências do estádio de maturação TV apresentaram o menor índice de cor (Figura 1). A partir do estádio VA observou-se que o IC tendeu a declinar, como resultado da oxidação dos pigmentos decorrentes do avanço da maturação. A coloração da polpa é um dos principais atributos relacionados com a aceitação do consumidor sendo também o melhor índice de maturidade (Chitarra e Chitarra, 2005).

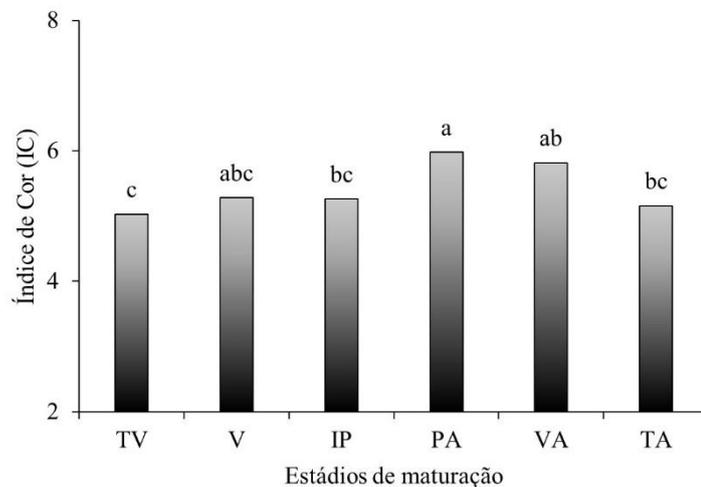


Figura 1. Índice de cor – IC da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível 5% de probabilidade.

Firmeza, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (TA) e relação sólidos solúveis/acidez

A firmeza do abacaxi ‘Vitória’ foi mais elevada em infrutescências dos estádios de maturação TV, V e IP as quais não diferiram entre si. As infrutescências dos estádios de maturação VA, PA e TA apresentaram as menores firmeza, com destaque para as infrutescências do TA. Estes resultados indicam que a maturidade avançada pode ter sido atingida no estágio de maturação VA (Figura 2 A).

Normalmente, ocorre diminuição da firmeza da polpa das infrutescências devido ao avanço do processo de maturação, decorrente das alterações da estrutura dos polímeros da parede celular, resultante da degradação dos polissacarídeos pécticos (Tehrani et al., 2011).

Essas alterações são catalisadas por enzimas hidrolíticas como metilesterases de pectina, pectatase, galactosidase, entre outras (Liu e Liu, 2017).

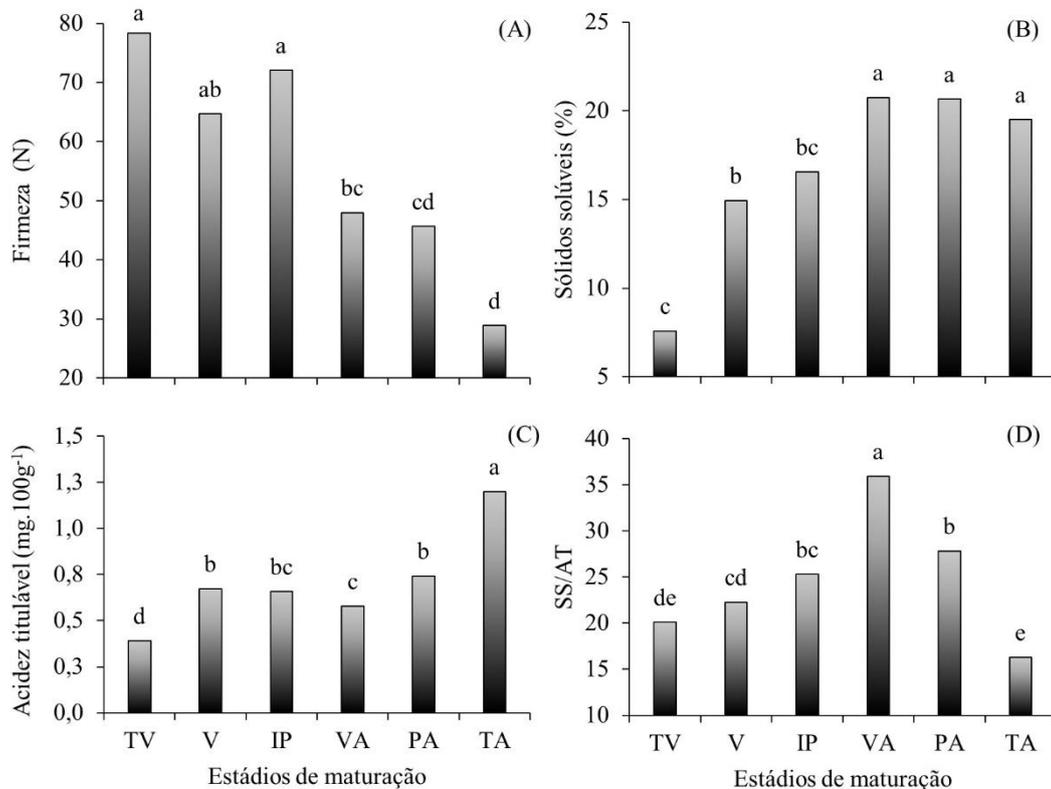


Figura 2. Firmeza (A), sólidos solúveis - SS (B), acidez titulável - AT (C) e relação SS/AT (D) de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado.

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível 5% de probabilidade.

Os sólidos solúveis (SS) das infrutescências de abacaxi ‘Vitória’ aumentaram em função dos estádios de maturação, de modo que infrutescências nos estádios de maturação VA, PA e TA apresentaram os maiores teores de SS, cerca de 20% que não diferiram, seguidos dos estádios IP e VA que também não diferiram, as infrutescências TV apresentaram os menores teores de SS quando comparada aos demais (Figura 2 B). Teores de SS similares aos das infrutescências TV foram observados em abacaxi ‘Queen Vitória’ que apresentaram SS em torno de 6,5 e 11,5; em ‘MD2’ que apresentaram SS de 5,3 e 7,2 e em ‘Flhoran 41’ 6,0 e 7,0 todos em estádios de maturação TV (totalmente verde) e V (verde) respectivamente. Porém, em estádios de maturação amarelo e maduro, as mesmas cultivares apresentaram teores de SS de 14,9 e 15,6 (‘Queen Vitória’), 12,2 e 13,0 (‘MD2’) e 12,1 e 11,6 (‘Flhoran 41’) (Léchaudel et al., 2018). Teores bem inferiores aos aqui reportados para abacaxi ‘Vitória’

em estádios de maturação similares. O aumento nos teores de SS durante a maturação é resultante do processo de desenvolvimento das infrutescências, uma vez que o amido (acumulado na fase de crescimento da fruta) é convertido em açúcares solúveis (Ogawa et al., 2018).

Os teores de acidez titulável (AT) foram maiores nas infrutescências do estágio de maturação TA, que se assemelham aos reportados por Lu et al. (2014) em abacaxis das cultivares ‘Giant Kew’ e ‘Smooth Cayenne’, com acidez em torno de 1,12 e 1,23 mg 100 g⁻¹ de ácido cítrico, respectivamente. Os frutos em estádios de maturação PA, IP e V apresentaram teores de AT próximos que não diferiram e foram semelhantes aos dos abacaxis ‘Pattavia’ e ‘Sriracha’ que apresentaram AT em torno de 0,85 e 0,81 mg 100 g⁻¹ de ácido cítrico (Lu et al., 2014). A AT de infrutescências VA e IP também não diferiram, já as infrutescências do estágio de maturação TV apresentaram os menores teores de acidez quando comparada com as demais (Figura 2 C). O aumento nos teores de acidez titulável durante o processo de maturação pode ser resultado de diferentes tipos de reações que usam os ácidos orgânicos como substrato, juntamente com os açúcares, no processo respiratório, fornecendo energia em diferentes estádios do ciclo de vida dos produtos vegetais (Chakraborty et al., 2015).

Em relação à relação SS/AT, que expressa o equilíbrio entre a doçura e a acidez dos frutos, simulando, em parte, o sabor do fruto que é percebido pelo consumidor (Lima et al., 2012), infrutescências VA apresentaram os maiores teores para a relação SS/AT seguidos das infrutescências PA e IP que não diferiram. O estágio IP e V não diferiram e apresentaram relação variando entre 22 e 25. Infrutescências TV e TA apresentaram as menores relações SS/AT (Figura 2 D). Resultados similares foram reportados em abacaxi ‘Vitória’ que apresentou uma relação SS/AT baixa no estágio de maturação verde e aumentou conforme a evolução da maturação (Ogawa et al., 2018).

O teor de ácido ascórbico foi maior nas infrutescências dos estádios de maturação TV e V que não diferiram e apresentaram teores variando de 17,40 a 20,09 mg 100 g⁻¹ de ácido ascórbico. Infrutescências dos estádios de maturação IP, VA e TA apresentaram teores de ácido ascórbico próximos e não diferiram. Infrutescências IP, VA e PA apresentaram os menores teores de ácido ascórbico que variaram entre 13,43 a 15 mg 100 g⁻¹ de (Figura 3 A). Os teores de ácido ascórbico, entretanto, foram inferiores aos do abacaxi ‘Queen Vitória’, ‘MD2’ e ‘Flhoran 41’ em estádios de maturação amarelo e maduro, que apresentaram teores de 23,3 e 25,0; 44,7 e 53,7; 21,6 e 20,5 mg 100 g⁻¹ de ácido ascórbico, respectivamente (Léchaudel et al., 2018). A grande variabilidade no conteúdo de ácido ascórbico pode ser

decorrente de múltiplos fatores, como a radiação solar, a temperatura do ar e a acidez (Calderón et al., 2009).

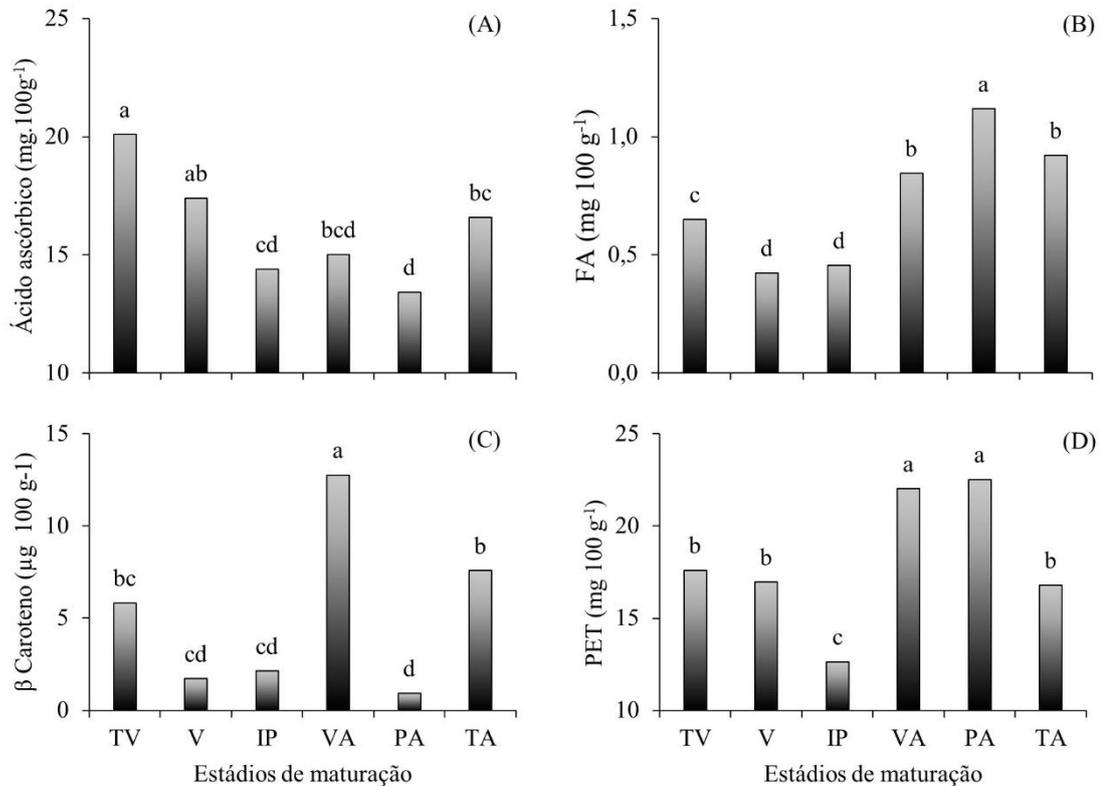


Figura 3. Teores de compostos bioativos, (A) ácido ascórbico, (B) FA - flavonoides amarelos, (C) β Caroteno e (D) PET - polifenóis extraíveis totais de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível 5% de probabilidade.

Os teores de flavonoides amarelos (FA) foram superiores em infrutescências de abacaxi ‘Vitória’ no estágio de maturação parcialmente alaranjado (PA) quando comparado aos demais, com valores de 1,12 mg 100g⁻¹. Os teores de FA em infrutescências VA e TA não diferiram e apresentaram valores de 0,84 a 0,92 mg 100g⁻¹. Infrutescências TV, V e IP apresentaram os menores teores de FA quando comparadas as demais (Figura 3 B). Os teores de FA aqui reportados foram inferiores aos de diferentes cultivares de abacaxi avaliados por Lu et al. (2014) que variou de 6,16 a 34,50 mg 100g⁻¹. No entanto, Dantas et al. (2015) reportaram FA para abacaxi Vitória oriundo da mesma região de cultivo em torno de 0,19 a 0,52 mg 100g⁻¹, próximos aos aqui reportados.

Os teores de β-Caroteno de abacaxi ‘Vitória’ no estágio de maturação VA foram maiores quando comparado aos demais, com valores de 12,76 µg 100g⁻¹ de β-Caroteno,

seguido de infrutescências TA e TV que não diferiram. Infrutescências TV, IP e PA apresentaram os menores teores de β -Caroteno (Figura 3 C). Entretanto, os teores de β -Caroteno se aproximam aos reportados por Ferreira et al. (2016) em abacaxi 'Vitória', com teores de β -Caroteno inferiores a $50 \mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$ e aos de abacaxi 'Phulae' e 'Nanglae' que apresentaram $3,35$ e $1,41 \mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$ de β -Caroteno, respectivamente (Kongsuwan et al., 2009). Teores próximos também foram constatados em abacaxis Smooth Cayenne e Gold que apresentaram teores de β -Caroteno em torno de $2,82$ e $8,12 \mu\text{g } 100\text{g}^{-1}$ respectivamente (Ramsaroop e Saulo, 2007).

Essas variações nos teores de β -Caroteno podem ser ocasionados por fatores tais como condições de crescimento, variedade ou cultivar e estádios de maturação, uma vez que Freitas et al. (2015) constataram teores de β -caroteno maior em abacaxizeiro maduro do que verde. Em abacaxi 'MD-2' os teores de β -caroteno da polpa aumentaram com a maturação do fruto (Ding e Syazwani, 2016). Outro fator que pode ocasionar essa variação é a biossíntese dos carotenóides que pode continuar após a colheita, devido a ação de enzimas responsáveis pela carotenogênese e também devido a uma possível ativação dos genes relacionados à via dos isoprenóides responsáveis pela biossíntese de enzimas associadas a esse processo (Freitas et al., 2015).

Os teores de polifenóis extraíveis totais (PET) nas infrutescências nos estádios de maturação VA e PA foram superiores aos demais estádios, mas não diferiram, com valores em torno de $22,02$ a $22,53 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, seguidos de infrutescências nos estádios TV, V e TA que não diferiram. Infrutescências no estádio IP apresentaram os menores valores de PET quando comparados aos demais (Figura 3 D). Este resultado pode ser decorrente da influência da evolução da maturação sobre a expressão e consequente atividade antioxidante do fruto, uma vez que, a mudança de transição da coloração verde para início de pigmentação requer maior quantidade de energia para suportar o dinamismo dos processos fisiológicos da célula (Ogawa et al., 2018). As variações nos teores de PET podem ser influenciadas por fatores tais como temperatura, umidade, solo, adubação, maturação e cultivar (Lobo et al., 2017). Sun et al. (2016) reportaram mudanças e variações nos teores de PET em diferentes cultivares de abacaxi, sendo o 'MD-2' que apresentou PET em torno de $72,57 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, 'Tainung4' $65,64 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de PET, 'Fresh Premium' $46,76 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ e em 'Smooth Cayenne' $40,42 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ de PET, todos superiores aos aqui reportados. No entanto, a cultivar 'Abacaxi Vermelho' apresentou teores de PET em torno de $25,51 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, próximos aos aqui reportados (Sun et al., 2016).

Atividade antioxidante total pela captura dos radicais ABTS^{•+} e DPPH[•]

A atividade antioxidante foi maior nos estádios V, IP e PA, que não diferiram e apresentaram os maiores valores de captura do ABTS^{•+}, seguidos das infrutescências dos estádios TA e VA. As infrutescências TV apresentaram os menores valores de captura do ABTS^{•+} (Figura 4 A). Ding e Syazwani (2016) reportaram em abacaxi ‘MD-2’ aumento na atividade antioxidante nos estádios de maturação 1 e 3 e diminuição conforme o avanço da maturação. No entanto, Fawole e Opara (2013) atribuíram essa variação na atividade antioxidante devido aos frutos mais maduros que podem apresentar uma AAT alta, podendo ser uma defesa contra os efeitos ocasionados pelo estresse oxidativo decorrente do avanço da maturação. Em relação aos valores de captura do ABTS^{•+} aqui reportados estes foram aproximados aos do abacaxi ‘MD-2’ que apresentaram valores em torno de 1,71 $\mu\text{M Trolox g}^{-1}$ (Martínez et al., 2012).

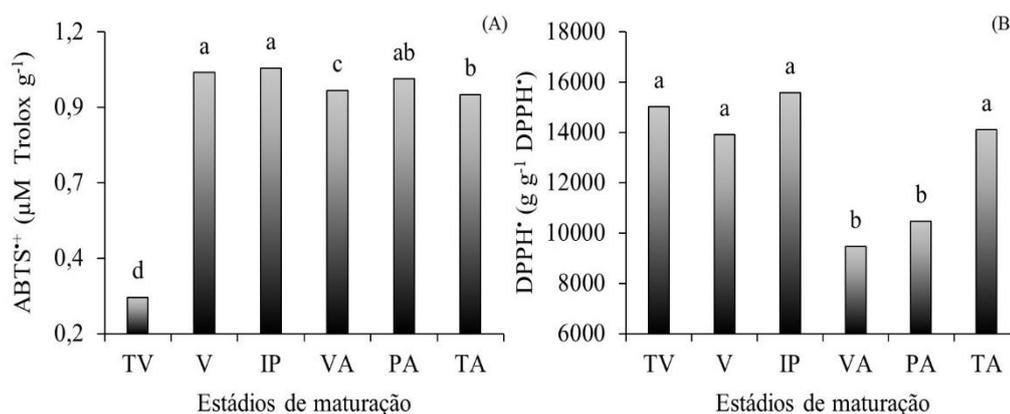


Figura 4. Atividade antioxidante total pelas metodologias de captura dos radicais (A) ABTS^{•+} e (B) DPPH[•] de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totamente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totamente alaranjado.

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível 5% de probabilidade.

A atividade antioxidante determinada pela captura do radical DPPH[•] (DPPH[•]), foi expressa em g de polpa g^{-1} de DPPH[•], ou seja, quanto menor a quantidade de gramas de polpa necessárias para reduzir gramas de DPPH[•] maior será a atividade antioxidante. Infrutescências VA e PA apresentaram cerca de duas vezes a maior atividade antioxidante, quando comparado aos demais estádios de maturação. Por sua vez, infrutescências TV, V, IP e TA não diferiram e apresentaram a menor atividade antioxidante por este método (Figura 4 B). Essa variação parece estar relacionada aos teores de fenólicos extraíveis totais (PET), uma vez que as infrutescências em estádios de maturação que apresentaram baixo teor de fenólicos

também se mostraram com uma baixa capacidade de sequestro do DPPH^{*} (Figura 3 D). Em geral, os compostos fenólicos são os fitoquímicos de maior contribuição na atividade antioxidante de plantas (Paz et al., 2015), esses compostos contêm uma diversos grupos hidroxila que podem ser responsáveis pela capacidade de eliminação de radicais livres (Martínez et al., 2012). Entretanto, Paz et al. (2015) constataram baixa eficiência dos extratos fenólicos de polpa de abacaxi no sequestro de radicais livres, atribuindo esse fato aos compostos fenólicos estarem ligados a outras moléculas, como carboidratos, que podem reduzir consideravelmente a atividade antioxidante. Li et al. (2014) atribuíram a variação na atividade antioxidante de abacaxis aos teores de fenólicos nos extratos, as condições climáticas e ao manuseio pós-colheita das infrutescências. Neste sentido, as atividades antioxidante nas infrutescências analisadas não podem ser atribuídas unicamente ao seu conteúdo fenólico, mas também às ações de diferentes compostos antioxidantes presentes nas infrutescências a exemplo de ácido ascórbico e β -caroteno.

Atividade das enzimas antioxidantes

Infrutescências de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação TA e IP apresentaram as maiores atividades da superóxido dismutase (SOD) quando comparado aos demais estádios que não diferiram. As infrutescências nos estádios V, VA e PA apresentaram valores próximos na atividade da SOD e não diferiram, seguidos das infrutescências TV que apresentaram a menor atividades da SOD (Figura 5).

Atividade enzimática da SOD foi similar aos das cultivares de abacaxi ‘Pattavia’ e ‘Trad-See-Thong’ que apresentaram atividade enzimática de 70 a 150 U mg⁻¹ proteína (Nukuntornprakit et al., 2015). A atividade enzimática da SOD está diretamente ligada a regulação do desenvolvimento e maturação dos frutos (Hu et al., 2016), podendo diferir sua expressão de acordo com a espécie vegetal, o estágio de desenvolvimento e as condições de estresse ambiental (Fernández-Ocaña et al., 2011). Sendo assim, o consumo do abacaxi maduros desempenha importante função para a saúde, uma vez que apresentam uma alta atividade enzimática, que exerce funções como a neutralização do estresse oxidativo, interrompendo reações oxidantes em cadeia e minimiza os danos causados pelos radicais livres (Wang, 2011), a exemplo do abacaxi TA, neste trabalho.

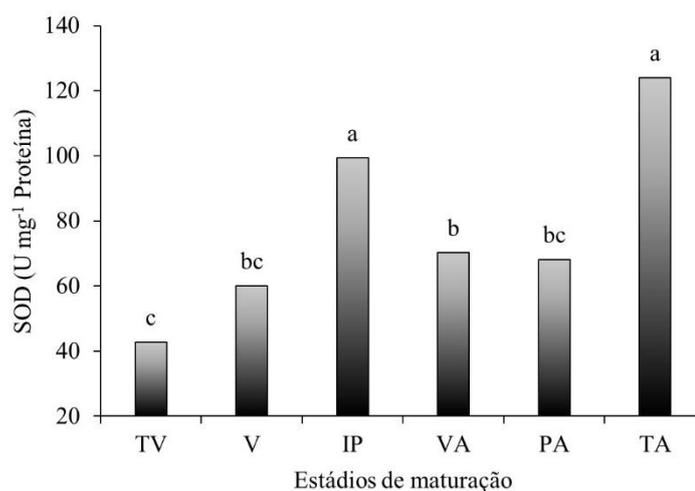


Figura 5. Atividade da superóxido dismutase – SOD, da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível 5% de probabilidade.

A atividade da peroxidase (POD) foi maior nas infrutescências de abacaxi ‘Vitória’ no estágio de maturação TA quando comparada aos demais, seguidos das infrutescências V. A atividade da POD nas infrutescências TV, IP, VA e PA não diferiram e foram menores que as demais (Figura 6). Cultivar de abacaxi ‘Comte de Paris’ armazenados em diferentes temperaturas apresentaram atividade da POD inferior aos aqui reportados, com valores de 200 U mg⁻¹ proteína (Hong et al., 2013). O mesmo comportamento foi reportado por Zhang et al. (2015) em abacaxi ‘Comte de Paris’ e ‘Queen’ que apresentaram atividade enzimática da POD em torno de 150 a 200 U mg⁻¹ proteína. Tais diferenças podem ser atribuídas ao grau de maturação dos frutos e, ou, a degradação da parede celular (Calderón et al., 2009).

O aumento da atividade da POD no estágio de maturação TA, foi atribuído por Raimbault et al. (2011) ao estresse dos frutos, ocasionado pelo processo de senescência. Por sua vez, Calderón et al. (2009) associou o aumento da atividade da POD a mudanças no sabor e na coloração de frutas e hortaliças, sendo esses também indicativos de senescência. Para Antonioli et al. (2012) a atividade dessa enzima está envolvida em diversas mudanças deteriorantes na cor, sabor, textura e qualidade nutritiva.

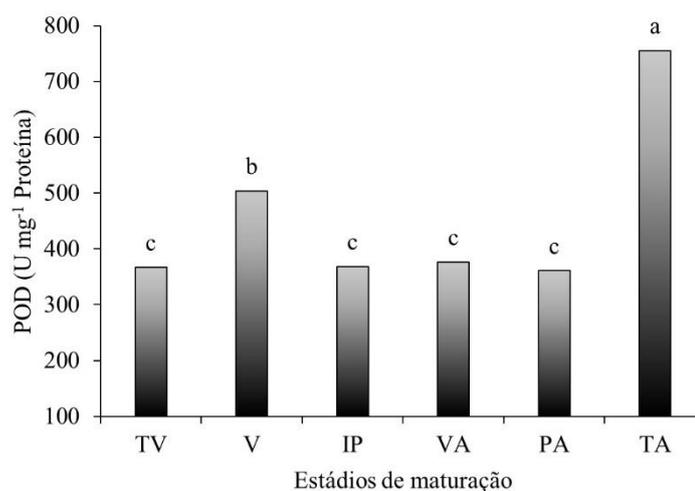


Figura 6. Atividade da peroxidase – POD da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. Médias seguidas de mesmas letras, não diferem pelo teste de Tukey até 5% de probabilidade.

As atividades da ascorbato peroxidase (APX) em infrutescências de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação V, PA, TA e VA foram maiores e não diferiram, seguidos das infrutescências TV e IP que também não diferiram e apresentaram as menores atividades da APX (Figura 7). Resultados similares foram reportados por Léchaudel et al. (2018) em três cultivares de abacaxi (‘Queen Vitória’, ‘MD2’ e ‘Flhoran 41’) que apresentaram diminuição na atividade enzimática da APX, conforme progressão da maturação, que apresentou também um incremento crescente na expressão da APX no estágio de maturação maduro. Porém, cultivares de abacaxi ‘Pattavia’ e ‘Trad-See-Thong’ apresentaram atividade enzimática de 7 e 11 U mg⁻¹ proteína, respectivamente (Nukuntornprakit et al., 2015), valores, inferiores aos aqui reportados. Neste sentido, infrutescências de abacaxi ‘Vitória’ em estádios de maturação PA e TA apresentam uma alta capacidade na remoção de espécies reativas de oxigênio, uma vez que a APX é uma das enzimas responsáveis pela remoção de H₂O₂ nas células (Mittler et al., 1991).

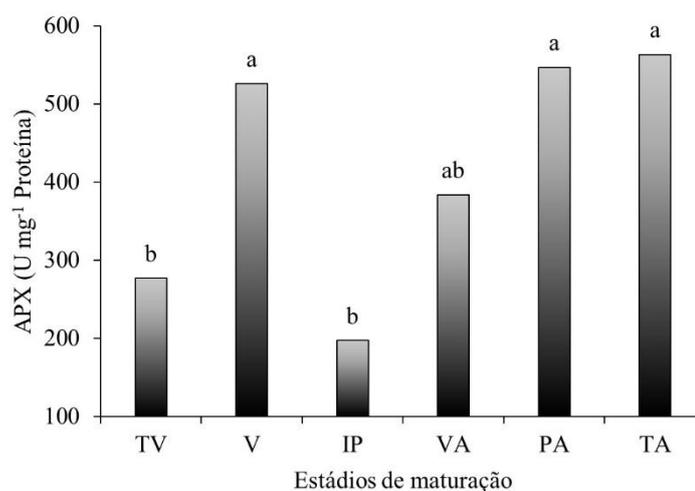


Figura 7. Atividade da ascorbato peroxidase – APX, da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey ao nível 5% de probabilidade.

Caracterização enzimática por SDS-PAGE

No presente estudo, o peso molecular da Peroxidase (POD) foi estimado em 47 kDa por SDS-PAGE (Figura 8). Diversos vegetais apresentam peso moleculares da POD na faixa de 30 a 60 kDa (Pandey et al., 2017), conforme foi reportado em frutos da jaqueira que apresentaram peso molecular estimado em 48 kDa por SDS-PAGE (Tao et al., 2018). Em baunilha, o peso molecular correspondente da POD foi estimado em 46,5 kDa (Márquez et al., 2008), enquanto em feijão o peso molecular estimado da POD foi de 45 kDa (Köktepe et al., 2017). Para abacaxi ‘Queen’ o peso molecular da peroxidase foi estimado na faixa entre 37 a 50 kDa (Debnath et al., 2019). As variações e diferenças observadas no peso molecular das peroxidases são atribuídas a modificações pós-translacionais na cadeia polipeptídica, incluindo o número e a composição das cadeias de glicano pós-adicionada, que estão presentes nas peroxidases vegetais (Al-Bagmi et al., 2019).

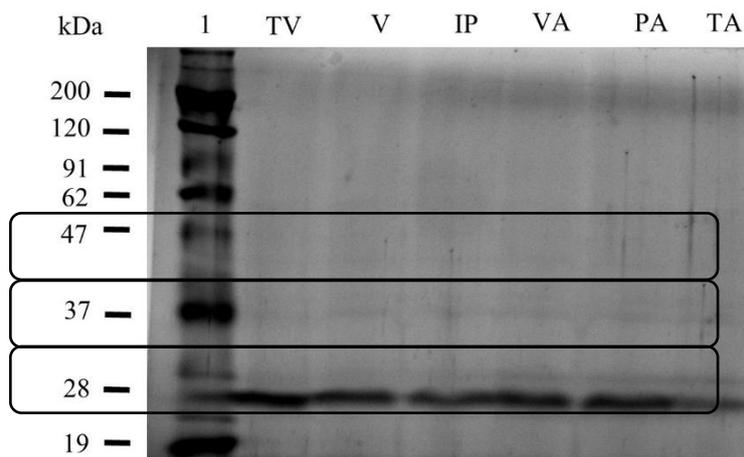


Figura 8. Gel de poliacrilamida, SDS-PAGE, corado com Commassie blue, com extratos da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado. 1- Marcadores Moleculares (Myosin, 200 kDa; β -galactosidase, 120 kDa; Bovine Serum, 91 kDa; Glutamate, 62 kDa; Ovalbumin, 47 kDa; Carbonic Anhydrase, 37 kDa; Mioglobina, 28 kDa; Lysozyme, 19 kDa; Aprotinin, 9 kDa).

A superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) é uma enzima antioxidante essencial, pois regula o estresse oxidativo nas células, provocando dismutação de radicais superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio (Sujiwattanarat et al., 2016). Diversos vegetais apresentam peso moleculares da SOD na faixa de 14 a 31 kDa. Em alho o peso molecular foi de aproximadamente 28 kDa (Liu et al., 2011). Para soja preta a SOD exibiu massa molecular de 31,0 kDa (Wang et al., 2012), enquanto que em diferentes clones de chá a massa molecular da SOD foi estimada em 30 kDa (Vyas e Kumar, 2005). Em folhas de pinheiro a massa molecular da SOD foi estimada em diferentes tamanhos que variaram de 16 a 24,8 kDa. Para azeitonas a massa molecular da SOD foi estimada em 25 kDa (Lopez-Huertas et al., 2014) e em maçã a massa molecular foi de 20 kDa (Sharma et al., 2015). Portanto, no presente estudo, o peso molecular da SOD foi estimado em 28 kDa por SDS-PAGE (Figura 8).

A Ascorbato Peroxidase (APX, EC 1.1.1.11) é uma das enzimas mais importantes nas células, pois é responsável pela eliminação e manutenção do conteúdo de H_2O_2 (Cunha et al., 2016). O peso molecular da APX em abacaxi ‘Vitória’ em diferentes estádios de maturação foi estimado em 37 kDa por SDS-PAGE (Figura 8). Diversos vegetais apresentam peso moleculares da APX na faixa de 25 a 58 kDa. Em *Pallavicinia* a massa molecular de APX foi de aproximadamente 28 kDa (Rajan e Murugan, 2010). Em *Arabidopsis* 48 kDa (Leonardis et

al., 2000), mas em brotos de ervilha 31 kDa (Mittler e Zilinskas, 1991), em soja a massa molecular da APX variou de 30 a 45 kDa (Kausar et al., 2012), em feijão 25 kDa (Torres et al., 2007), folhas de tabaco 34 kDa (Madhusudhan et al., 2003), em frutos de oliveira a massa molecular da APX variou de 30 a 45 kDa (Lopez-Huertas et al., 2014), estando a expressão da APX aqui apresentada, inserida nesta faixa.

Análise de Componentes principais

A análise de componentes principais explicou 72,85% da variância entre os estádios de maturação com dois componentes principais (CPs). Na Tabela 1, pode-se observar a descrição das contribuições das variáveis para os dois primeiros CPs, que por sua vez, contribuem para a discriminação de quatro grupos de estádios de maturação, considerando, simultaneamente, seus efeitos sobre as variáveis físicas, físico-químicas, atividade funcional e antioxidante enzimática.

Tabela 1. Autovetores dos dois componentes principais (CP1 e CP2) para as variáveis relacionadas com as características físicas, físico-química, atividade funcional e antioxidante enzimática e não enzimática da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totamente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totamente alaranjado.

Variáveis	CP1	CP2
IC	0,323	-0,283
Firmeza	-0,350	-0,203
SS	0,385	0,046
AT	0,222	0,411
SSAT	0,183	-0,387
AA	-0,304	0,063
FLA	0,306	-0,043
β. Caroteno	0,097	-0,069
PET	0,259	-0,280
DPPH	-0,322	0,277
ABTS	0,273	0,143
APX	0,260	0,167
SOD	0,159	0,382
POD	0,089	0,445
Autovalor	6,074	4,126
Variância acumulada (%)	43,38	72,85

Valores em negrito representam autovetores com contribuição significativa (correlação superior a $\pm 0,6$) para o componente em questão determinado de acordo com Wairegi e van Asten (2011).

O CP1 explica 43,38% da variância total do conjunto de dados originais. As variáveis que participam do CP1, com autovetores positivos, são índice de cor (IC), solido solúveis

(SS), flavanoides amarelos (FLA), polifenóis extraíveis totais (PET), ABTS e a enzima APX, enquanto as variáveis Firmeza, ácido ascórbico (AA) e DPPH apresentaram autovetores negativos (Tabela 1).

O CP 2 explica 29,47% da variância total e as variáveis que contribuíram para este componente foram AT e as atividades das enzimas SOD e POD que apresentaram autovetores positivos, e a variável SS/AT que apresentou autovetor negativo (Tabela 1).

A Figura 9 apresenta o círculo de autovetores para as variáveis estudadas e o agrupamento dos estádios de maturação da polpa de abacaxi ‘Vitória’ com base nas variáveis correlacionadas com os CP1 e CP2. Neste sentido, o grupo 1 foi composto pelo estágio TV, que apresentou score negativo e elevado no CP1, caracterizado principalmente pela elevada firmeza, baixa atividade antioxidante por ABTS, menor teor de sólidos solúveis (SS), menor acidez titulável (AT), menor teor de flavonoides (FLA) e índice de cor (IC). Por sua vez, o grupo 2 reuniu os estádios IP e V. Este grupo ficou próximo ao centroide, indicando valores próximos à média geral para a maioria das variáveis originais em estudo. No entanto o grupo 2 também é caracterizado por estádios de maturação com maiores teores de ácido ascórbico (AA) e baixa atividade antioxidante por DPPH.

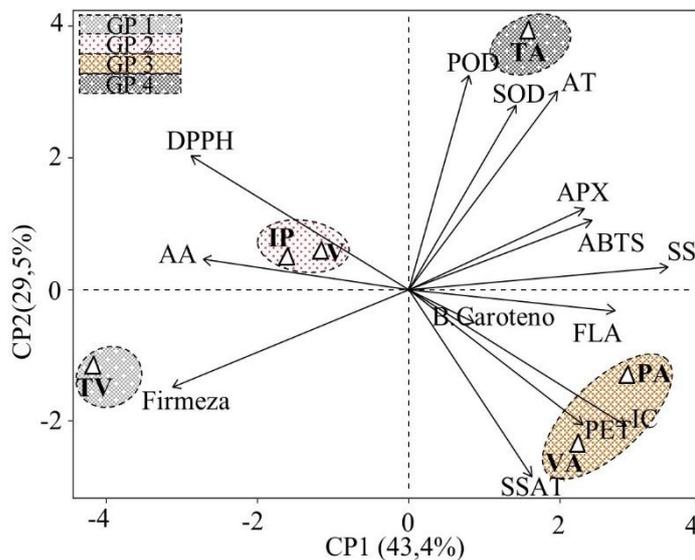


Figura 9. Biplot com base nos valores das variáveis e pontuação para os tratamentos dos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) originados a partir das características físicas, físico-química, atividade funcional e antioxidante enzimática e não enzimática da polpa de abacaxi ‘Vitória’ nos estádios de maturação, TV=totalmente verde, V=verde, IP=início de pigmentação, VA=verde alaranjado, PA=parcialmente alaranjado e TA=totalmente alaranjado.

O grupo 3, formado pelos estádios PA e VA, apresentou escores positivo no CP1 e negativo no CP2. Neste sentido, infrutescências nos estádios PA e VA apresentam elevado teor de polifenóis extraíveis totais (PET), maior atividade antioxidante por DPPH, além de maior relação SS/AT, maior IC, baixa atividade das enzimas POD e SOD e baixa acidez titulável. Por fim, no grupo 4 o TA se diferenciou de todos os demais, apresentando escore elevado e positivo no CP2, caracterizado principalmente pela elevada atividade das enzimas POD e SOD, elevada acidez e menor relação SS/AT.

4 CONCLUSÃO

1. As mudanças na coloração durante a maturação das infrutescências foram claramente demonstradas pelo IC;
2. Abacaxi 'Vitória' nos estádios de maturação TV e V, apresentaram as maiores firmeza e os teores de SS, AT e a relação SS/AT aumentam em função do grau de maturação;
3. Infrutescências de abacaxizeiro 'Vitória' nos estádios de maturação TV e V apresentam teor de ácido ascórbico maior e que diminuiu progressivamente com a maturação;
4. Infrutescências de abacaxizeiro 'Vitória' apresentou aumento no conteúdo de FA e PET de acordo com o avanço de maturação, com destaque para o estádio de maturação parcialmente alaranjado (PA) que apresentaram os maiores teores;
5. Infrutescências de abacaxizeiro 'Vitória' em estádio de maturação VA e TA apresentaram aos maiores teores de β -Caroteno;
6. A atividade antioxidante pela captura do radical ABTS^{•+} (ABTS^{•+}) e DPPH[•] (DPPH[•]) foi maior em infrutescências em estádio de maturação PA;
7. Infrutescências de abacaxi 'Vitória' nos estádios de maturação TA e IP apresentaram as maiores atividades da superóxido dismutase (SOD);
8. A atividade da peroxidase (POD) foi maior nas infrutescências de abacaxi 'Vitória' no estádio de maturação TA;
9. Infrutescências de abacaxi 'Vitória' nos estádios de maturação V, VA, PA e TA apresentaram as maiores atividades da ascorbato peroxidase (APX);
10. O peso molecular das enzimas antioxidantes em abacaxi 'Vitória' em diferentes estádios de maturação foi estimado em 47 kDa POD, 28 kDa SOD e 37 kDa APX e foram mais fortemente expressas nos estádios PA e TA; TA; e TA, respectivamente.

5 REFERÊNCIAS

- ABÍLIO, G.M.F.; HOLSCHUH, H.J.; BORA, P.S.; OLIVEIRA, E.F.D.E. Extração, atividade da bromelina e análise de alguns parâmetros químicos em cultivares de abacaxi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2009.
- AL-BAGMI, M. S.; KHAN, M.S.; ISMAEL, M.A.; AL-SENAIDY, A.M.; BACHA, A. B.; HUSAIN, F.M.; ALAMERY, S.F. An efficient methodology for the purification of date palm peroxidase: Stability comparison with horseradish peroxidase (HRP). **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 2, p. 301-307, 2019.
- ANTONIOLLI, L.R.; BENEDETTI, B.C.; SOUZA FILHO, M.D.S.M.; GARRUTI, D. D.S.; BORGES, M.D.F. Shelf life of minimally processed pineapples treated with ascorbic and citric acids. **Bragantia**, v. 71, n. 3, p. 447-453, 2012.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry, 2005. Washington, WA, 17th edn.
- ARATHI, B.P.; SOWMYA, P.R.R.; VIJAY, K.; BASKARAN, V.; LAKSHMINARAYANA, R. Progress in Enrichment and Metabolic Profiling of Diverse Carotenoids in Tropical Fruits: Importance of Hyphenated Techniques. **Phytonutritional Improvement of Crops**, p. 271, 2017.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- CALDERÓN, M.M.; ROJAS-GRAÜ, M.A.; MARTÍN-BELLOSO, O. Mechanical and chemical properties of Gold cultivar pineapple flesh (*Ananas comosus*). **European Food Research and Technology**, v. 230, p. 675–686, 2009.
- CHAKRABORTY, S.; RAO, P.S.; & MISHRA, H.N. Effect of combined high pressure–temperature treatments on color and nutritional quality attributes of pineapple (*Ananas comosus* L.) puree. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 28, p. 10–21, 2015.
- CHITARRA, M. I.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de Frutos e Hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras. **UFLA, 785pp**. 2005.
- CUNHA, J.R.; NETO, M.C.L.; CARVALHO, F.E.; MARTINS, M.O.; JARDIM-MESSEDER, D.; MARGIS-PINHEIRO, M.; SILVEIRA, J. A. Salinity and osmotic stress

trigger different antioxidant responses related to cytosolic ascorbate peroxidase knockdown in rice roots. **Environmental and Experimental Botany**, v. 131, p. 58-67, 2016.

DANTAS, A.L.; MELO SILVA, S.; DANTAS, R.L.; PEREIRA, W.E.; LIMA, R.P.; MENDONÇA, R.M.N.; SANTOS, D. Influence of combined sources of nitrogen fertilization on quality of cv. Vitria pineapple. **African Journal of Agricultural Research**, v.10, p. 3814-3824, 2015.

DEBNATH, R.; CHATTERJEE, N.; DAS, S.; MISHRA, S.; BOSE, D.; BANERJEE, S.; DAS, S.; SAHA, K.D.; Ghosh, D.; MAITI, D. Bromelain with peroxidase from pineapple are more potent to target leukemia growth inhibition-A comparison with only bromelain. **Toxicology in Vitro**, v. 55, p. 24-32, 2019.

DING, P.; SYAZWANI, S. Physicochemical quality, antioxidant compounds and activity of MD-2 pineapple fruit at five ripening stages. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 2, p. 549, 2016.

FAWOLE, O.A.; OPARA, U.L. Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv. Ruby) fruit at five maturity stages. **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 37-46, 2013.

FERNÁNDEZ-OCAÑA, A.; CHAKI, M.; LUQUE, F.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, M.V.; CARRERAS, A.; VALDERRAMA, R.; BEGARA-MORALES, J.C.; HERNÁNDEZ, L.E.; CORPA, F.J.; BARROSO, J.B. Functional analysis of superoxide dismutases (SODs) in sunflower under biotic and abiotic stress conditions. Identification of two new genes of mitochondrial Mn-SOD. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 1303–1308, 2011.

FERREIRA, E.A.; SIQUEIRA, H.E.; BOAS, E.V.V.; HERMES, V.S.; RIOS, A.D.O. Bioactive compounds and antioxidant activity of pineapple fruit of different cultivars. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 3, 2016.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. **Anthocyanins as food colors.**, p. 181-207, 1982.

FREITAS, A., MOLDÃO-MARTINS, M., COSTA, H. S., ALBUQUERQUE, T. G., VALENTE, A., & SANCHES-SILVA, A. Effect of UV-C radiation on bioactive compounds of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) by-products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 1, p. 44-52, 2015.

HIDAYAT, T.; ABDULLAH, F.I.; KUPPUSAMY, C.; SAMAD, A.A.; WAGIRAN, A. Molecular identification of Malaysian pineapple cultivar based on internal transcribed spacer region. **APCBEE Procedia**, v. 4, p. 146-151, 2012.

HONG, K., XU, H., WANG, J., ZHANG, L., HU, H., JIA, Z., GUA, H., HE, Q., GONG, D. Quality changes and internal browning developments of summer pineapple fruit during storage at different temperatures. **Scientia Horticulturae**, v. 151, p. 68-74, 2013.

HU, Z.; HONG, P.; LIAO, M.; KONG, S.; HUANG, N.; OU, C.; LI, S. Preparation and characterization of chitosan — Agarose composite films. **Materials**, v. 9, p. 816, 2016.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. 2008. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: IAL, 1 ed. digital. 1020p.

JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis. I. Artificial data. **Journal of the Royal Statistical Society. Series C: Applied statistics**. v. 21, n. 2, p. 160-173, 1972

KAUSAR, R.; HOSSAIN, Z.; MAKINO, T.; KOMATSU, S. Characterization of ascorbate peroxidase in soybean under flooding and drought stresses. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 12, p. 10573-10579, 2012.

KÖKTEPE, T.; ALTIN, S.; TOHMA, H.; GÜLÇİN, İ.; KÖKSAL, E. Purification, characterization and selected inhibition properties of peroxidase from haricot bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International journal of food properties**, v. 20, n. sup2, p. 1944-1953, 2017.

KONGSUWAN, A.; SUTHILUK, P.; THEPPAKORN, T.; SRILAONG, V.; SETHA, S. Bioactive compounds and antioxidant capacities of phulae and nanglae pineapple. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**, v. 2, n. Special Issue, 2009.

LAEMMLI, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of head of Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680, 1970.

LÉCHAUDEL, M.; DARNAUDERY, M.; JOËT, T.; FOURNIER, P.; JOAS, J. Genotypic and environmental effects on the level of ascorbic acid, phenolic compounds and related gene expression during pineapple fruit development and ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, 130, 127–138, 2018.

LEONARDIS, S.; DIPIERRO, N.; DIPIERRO, S. Purification and characterization of an ascorbate peroxidase from potato tuber mitochondria. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 10, p. 773-779, 2000.

LI, T.; SHEN, P.; LIU, W.; LIU, C.; LIANG, R.; YAN, N.; CHEN, J. Major polyphenolics in pineapple peels and their antioxidant interactions. **International journal of food properties**, v. 17, n. 8, p. 1805-1817, 2014.

LIMA, A.B. de; SILVA, S. de M.; ROCHA, A.; NASCIMENTO, L.C. do; RAMALHO, F. de S. Conservação pós-colheita de manga “Tommy Atkins” orgânica sob recobrimentos bio-orgânicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 3, p. 704-710, 2012.

LIU, C.H.; LIU, Y. Fruit quality and differentially expressed genes of winter-harvested pineapple in response to elevated temperature over a short postharvest period. **Postharvest Biology and Technology**, v. 130, p. 21-27, 2017.

LIU, J.; WANG, J.; YIN, M.; ZHU, H.; LU, J.; CUI, Z. Purification and characterization of superoxide dismutase from garlic. **Food and Bioprocess Processing**, v. 89, n. 4, p. 294-299, 2011.

LOBO, M.G.; YAHIA, E. Biology and postharvest physiology of pineapple. **Handbook of Pineapple Technology: Production, Postharvest Science, Processing and Nutrition**, p. 39-61, 2017.

LOPEZ-HUERTAS, E.; LUIS, A. Characterization of antioxidant enzymes and peroxisomes of olive (*Olea europaea* L.) fruits. **Journal of plant physiology**, v. 171, n. 16, p. 1463-1471, 2014.

LU, X.H.; SUN, D.Q.; WU, Q.S.; LIU, S.H.; SUN, G.M. Physico-chemical properties, antioxidant activity and mineral contents of pineapple genotypes grown in China. **Molecules**, v. 19, n. 6, p. 8518-8532, 2014.

Lv, W.T.; Lin, B.; Zhang, M; Hua, X.J. Proline Accumulation Is Inhibitory to Arabidopsis Seedlings during Heat Stress. **Plant Physiology**, v. 156, n. 4, p. 1921-1933, 2011.

MADHUSUDHAN, R.; ISHIKAWA, T.; SAWA, Y.; SHIGEOKA, S.; SHIBATA, H. Characterization of an ascorbate peroxidase in plastids of tobacco BY-2 cells. **Physiologia Plantarum**, v. 117, n. 4, p. 550-557, 2003.

MARTÍNEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M.A.; FIGUEROA, J.G.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1520-1526, 2012.

MITTLER, R.; ZILINSKAS, B.A. Purification and characterization of pea cytosolic ascorbate peroxidase. **Plant Physiology**, v. 97, n. 3, p. 962-968, 1991.

MONTERO-CALDERÓN, M.; ROJAS-GRAÜ, M.A.; MARTÍN-BELLOSO, O. Mechanical and chemical properties of Gold cultivar pineapple flesh (*Ananas comosus*). **European Food Research and Technology**, v. 230, n. 4, p. 675-686, 2010.

MOTTA, J.D.; MELO QUEIROZ, A.J.; FIGUEIRÊDO, R.M.F.; SOUSA, K.D.S.M. Índice de cor e sua correlação com parâmetros físicos e físico-químicos de goiaba, manga e mamão. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 1, p. 74-82, 2015.

MOYLE, R.; FAIRBAIRN, D.J.; RIPI, J.; CROWE, M.; BOTELLA, J.R. Developing pineapple fruit has a small transcriptome dominated by metallothionein, **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p.101–112, 2005.

NUKUNTORNPRAKIT, O.; CHANJIRAKUL, K.; VAN DOORN, W.G.; SIRIPHANICH, J. Chilling injury in pineapple fruit: Fatty acid composition and antioxidant metabolism. **Postharvest Biology and Technology**, v. 99, p. 20–26, 2015.

OGAWA, E. M.; COSTA, H.B.; VENTURA, J.A.; CAETANO, L.C.; PINTO, F.E.; OLIVEIRA, B.G.; BARROSO, M.E.; SCHERER, R.; ENDRINGER, D.C.; ROMÃO, W. Chemical profile of pineapple cv. Vitória in different maturation stages using electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 3, p. 1105-1116, 2018.

PANDEY, V.P.; AWASTHI, M.; SINGH, S.; TIWARI, S.; DWIVEDI, U.N.A. comprehensive review on function and application of plant peroxidases. **Biochemistry and Analytical Biochemistry**, v. 6, n. 01, p. 308, 2017.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M.F.; CARVALHO, A.P.; DOMINGUES, V.F.; GOMES, A.M.; BECKER, H.; LONGHINOTTI, E.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 172, p. 462-468, 2015.

RAJAN, S.S.; MURUGAN, K. Purification and kinetic characterization of the liverwort *Pallavicinia lyelli* (Hook.) S. Gray. cytosolic ascorbate peroxidase. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 9, p. 758-763, 2010.

RAMSAROOP, Raymond ES; SAULO, Aurora A. Comparative consumer and physicochemical analysis of Del Monte Hawaii Gold and Smooth Cayenne pineapple cultivars. **Journal of food quality**, v. 30, n. 2, p. 135-159, 2007.

SHARMA, R.; NATH, A.K. Antioxidant Levels and Activities of Reactive Oxygen-Scavenging Enzymes in Crab Apple Fruits (*Malus baccata*). **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 86, n. 4, p. 877-885, 2016.

STEINGASS, C.B.; CARLE, R.; SCHMARR, H.G. Ripening-dependent metabolic changes in the volatiles of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) fruit: I. Characterization of

pineapple aroma compounds by comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p 2591–2608, 2015.

STEINGASS, C.B.; GRAUWET, T.; CARLE, R. Influence of harvest maturity and fruit logistics on pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) volatiles assessed by headspace solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry (HS-SPME-GC/MS). **Food chemistry**, v. 150, p. 382-391, 2014.

SUJIWATTANARAT, P.; PONGSANARAKUL, P.; TEMSIRIPONG, Y.; TEMSIRIPONG, T.; THAWORNKUNO, C.; UNO, Y.; UNAJAK, S. SRIKULNATH, K. Molecular cloning and characterization of Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) copper, zinc superoxide dismutase (CSI-Cu, Zn-SOD) gene. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 191, p. 187-195, 2016.

SUN, G.-M.; ZHANG, X.-M.; SOLER, A.; MARIE-ALPHONSINE, P. Nutritional Composition of Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.). In: **Nutritional Composition of Fruit Cultivars**. Academic Press, 2016, p. 609–637.

TAO, Y.M.; WANG, S.; LUO, H.L; YAN, W.W. Peroxidase from jackfruit: Purification, characterization and thermal inactivation. **International journal of biological macromolecules**, v. 114, p. 898-905, 2018.

TEHRANI, M.; SHARIF HOSSAIN, A.B. M.; NASRULHAQ-BOYCE, A. Postharvest physico-chemical and mechanical changes in 'Jambu Air'(Syzygium aqueum Alston) fruits. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 1, p. 32, 2011.

TORRES, N. L.; CHO, K.; SHIBATO, J.; HIRANO, M.; KUBO, A.; MASUO, Y.; Iwahashi, H.; JWA, N.S.; AGRAWA, G.K.; RAKWAL, R. Gel-based proteomics reveals potential novel protein markers of ozone stress in leaves of cultivated bean and maize species of Panama. **Electrophoresis**, v. 28, n. 23, p. 4369-4381, 2007.

VENTURA, J.A.; COSTA, H.; CAETANO, I.C.S. Abacaxi 'Vitória': uma cultivar resistente à fusariose. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 31, p. 1–2, 2009.

VYAS, D.; KUMAR, S. Purification and partial characterization of a low temperature responsive Mn-SOD from tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 329, n. 3, p. 831-838, 2005.

WAIREGI, L.; VAN ASTEN, P. Norms for multivariate diagnosis of nutrient imbalance in the East African highland bananas (*Musa* spp. AAA). **Journal of plant nutrition**, v. 34, n. 10, p. 1453-1472, 2011.

WANG, S.; SHAO, B.; LIU, S.; YE, X.; RAO, P. Purification and characterization of Cu, Zn-superoxide dismutase from black soybean. **Food Research International**, v. 47, n. 2, p. 374-379, 2012.

WANG, Shiow Y. Correlation of antioxidants and antioxidant enzymes to oxygen radical scavenging activities in berries. In: **Berries and cancer prevention**. Springer, New York, NY, 2011. p. 79-97.

WRIGHT, K. P.; E KADER, A. A. Effect of controlled-atmosphere storage on the quality and carotenoid content of sliced persimmons and peaches. **Postharvest Biology and Technology**. Amsterdam, v.10, n.1, p. 89-97, 1997.

WU, G.L.; CUI, J.; TAO, L.; Yang, H. Fluroxypyr triggers oxidative damage by producing superoxide and hydrogen peroxide in rice (*Oryza sativa*). **Ecotoxicology**, v. 19, n. 1, p. 124, 2010.

YANG, Z.; ZHENG, Y.; CAO, Shifeng. Effect of high oxygen atmosphere storage on quality, antioxidant enzymes, and DPPH-radical scavenging activity of Chinese bayberry fruit. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 1, p. 176-181, 2009.

ZHANG, Q.; LIU, Y.; HE, C.; ZHU, S. Postharvest Exogenous Application of Abscisic Acid Reduces Internal Browning in Pineapple. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 5313–5320, 2015.

CAPÍTULO II: Artigo científico

**FISIOLOGIA, POTENCIAL FUNCIONAL E CONSERVAÇÃO PÓS COLHEITA DE
ABACAXI 'PÉROLA' SOB RECOBRIMENTOS A BASE DE FÉCULA CONTENDO
NADES**

**Trabalho em fase de revisão final pelos autores para submissão em periódico
(Qualis/Capes B1 Ciências Agrárias I)**

FISIOLOGIA, POTENCIAL FUNCIONAL E CONSERVAÇÃO PÓS COLHEITA DE ABACAXI 'PÉROLA' SOB RECOBRIMENTOS A BASE DE FÉCULA CONTENDO NADES

RESUMO

Abacaxi 'Pérola' têm sido comercializados em todo o mundo devido ao seu aroma e sabor agradáveis. No entanto, é altamente perecível, aspecto agravado em decorrência das limitações da cadeia produtiva. Fazendo-se necessário o desenvolvimento de tecnologias que proporcionem aumento da vida útil pós-colheita. Tecnologias usadas para esse fim, tem sido o uso de formulação de filmes e recobrimentos biodegradáveis produzidos a base de polissacarídeos. No entanto, é necessário a adição de agentes plastificantes nessas formulações, como o glicerol, substância compatíveis com amido, como alternativa inovadora, natural e verde a este plastificante, os solventes naturais eutéticos profundos (NADES) tem se destacado. Neste contexto, objetivou-se avaliar a qualidade e as propriedades funcionais de infrutescências do abacaxizeiro 'Pérola' sob recobrimentos biodegradáveis a base de amido de mandioca adicionados de NADES de cloreto de colina e ácido ascórbico durante o armazenamento em condição ambiente. Utilizou-se infrutescências de abacaxizeiro cultivar Pérola na maturidade comercial. O solvente natural eutéticos profundo (NADES) foi obtido da combinação de ácido ascórbico com cloreto de colina, a extração da fécula foi realizada a partir de raízes de mandioca, as soluções filmogênicas foram preparadas com fécula de mandioca a 2,5% e NADES a 0,75% e/ou glicerol a 0,75%. Os frutos foram armazenados em condição ambiente durante 19 dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x6. Infrutescências de abacaxizeiro 'Pérola' sem recobrimento apresentaram as maiores taxas de produção de CO₂ durante o armazenamento, a firmeza do abacaxi 'Pérola' diminuiu durante o armazenamento. Sólidos solúveis aumentaram de forma linear durante o armazenamento, com teores variando de 10 a 13%. O ácido ascórbico apresentou interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos, aumentando durante o armazenamento. O conteúdo de flavonoides amarelo apresentou redução linear durante o armazenamento de todos os recobrimentos, a aplicação dos recobrimentos no abacaxi 'Pérola' aumentou a atividade antioxidante, com destaque para os recobertos com (NADES+F) e (NADES+G+F). Quanto a percepção do odor e sabor estranho não houve influência da interação entre os períodos de avaliação e os recobrimentos aplicados. A análise de componentes principais explicou 86,3% da variância entre os recobrimentos com apenas dois componentes principais. O recobrimento NADES+F proporcionou menor perda de massa e manutenção dos teores de sólidos solúveis em abacaxi 'Pérola' quando comparados com frutos do controle. Abacaxi 'Pérola' recobertos com (NADES+F) aumentaram os teores de fenólicos extraíveis totais (PET). O escurecimento e a translucidez da polpa de abacaxi 'Pérola' foram inibidos mediante o recobrimento com (NADES+F). O uso de recobrimento é necessário para a manutenção da qualidade de abacaxi 'Pérola' durante o armazenamento no ambiente.

Palavras-chave: *Ananas comosus* var. *Comosus*, taxa respiratória, flavonoides amarelos, atividade antioxidante, NADES, *Manihot esculenta* Crantz, aceitação sensorial.

ABSTRACT

Pineapple fruit cv. Pérola has been marketed worldwide due to their pleasant aroma and taste. However, it is highly perishable, and its perishability is aggravated due to the limitations of the production chain. Thus, it is necessary to develop technologies that provide increased post-harvest life. The technologies used for this purpose have been the use of film formulation and biodegradable coatings produced based on polysaccharides. However, it is necessary to add plasticizing agents to these formulations, such as glycerol, a substance compatible with starch. As an innovative, natural and green alternative to this plasticizer, the deep eutectic natural solvents (NADES) have stood out. In this contest, the objective was to evaluate the quality and functional properties of pineapple fruits under biodegradable coatings based on cassava starch and added with NADES of choline chloride and ascorbic acid during storage in room conditions. The pineapple fruit used was cv. Pérola at commercial maturity. The NADES were obtained by combining ascorbic acid and choline chloride. Starch was extracted from cassava roots. Coating solutions were prepared with 2.5% cassava starch plus NADES at 0.75% and/or plus glycerol at 0.75%. Coated and uncoated fruits were stored at room condition for 19 days. The experiment was conducted in a completely randomized design in a 4x6 factorial scheme. Uncoated fruit showed the highest rate of CO₂ production during storage and the firmness decreased during storage. Soluble solids increased linearly during storage, with levels ranging from 10 to 13%. Ascorbic acid showed a significant interaction between storage time and coatings, increasing during storage. The content of yellow flavonoids showed a linear reduction during the storage for all coatings. The coating application in 'Pérola' fruit increased the antioxidant activity, especially those covered with NADES + F and NADES + G + F. Regarding the perception of odor and unpleasant taste, there was no influence of the interaction between the storage periods and coatings. Principal component analysis explained 86.3% of the variance between coatings with only two main components. The NADES + F coating provided less weight loss and maintenance of soluble solids content in 'Pérola' fruit when compared to control fruits. Pineapple 'Pérola' covered with NADES + F had increased levels of total extractable phenolics (PET). The browning and translucency of 'Pérola' pineapple pulp were inhibited by coating with NADES + F. The use of coating is necessary to maintain the quality of 'Pérola' pineapple during storage at room condition.

Keywords: *Ananas comosus* var. *Comosus*, respiration rate, yellow flavonoids, antioxidant activity, NADES, *Manihot esculenta* Crantz, sensory acceptance.

1 INTRODUÇÃO

Infrutescências de abacaxi (*Ananas comosus* var *Comosus*) têm sido comercializados em todo o mundo devido ao seu aroma e sabor agradáveis, originários de uma mistura complexa de substâncias tais como os compostos alifáticos oxigenados (Jovanovic et al., 2018), além de teores consideráveis de polifenóis e vitamina A (DiFonzo et al., 2019), micronutrientes e outros fitoquímicos antioxidantes, como ácido ascórbico e flavonoides (Chakraborty et al., 2015). Dentre as cultivares produzidas em todo o mundo a ‘Pérola’ tem se destacado, principalmente no Brasil (ITFNet, 2016). No entanto, o abacaxi é altamente perecível, aspecto agravado em decorrência das limitações da cadeia produtiva, que é seriamente afetada por fatores tais como desordens fisiológicas, incidência de doenças e danos mecânicos, resultando em curta vida útil pós-colheita, limitando sua comercialização e consumo (Techavuthiporn et al., 2017).

Nesse sentido, faz-se necessário o desenvolvimento de tecnologias limpas que aumentem a vida útil pós-colheita de frutos dessa natureza. Dentre as principais tecnologias usadas para esse fim, tem se destacado o uso de recobrimentos biodegradáveis (Azerêdo et al., 2016; Guimarães et al., 2017; Treviño-Garza et al., 2017, Yeoh, e Ali, 2017) que atuam como barreiras na transmissão de umidade, solutos e gases podendo fornecer proteção contra deterioração da textura, alterações no teor de sólidos solúveis e ácidos, podendo ser benéfico em minimizar o escurecimento enzimático e perda de compostos bioativos (Spotti et al., 2016; Treviño-Garza et al., 2017).

A principal matriz polimérica para produção e formulação de filmes e recobrimentos biodegradáveis para cobertura de frutos e hortaliças tem sido os polissacarídeos, como o amido de raízes e tubérculos, tais como mandioca e inhame, biopolímeros renováveis amplamente distribuídos na natureza, compostos de amilose e amilopectina (Cruz-Benítez et al., 2019). Recobrimentos a base de biopolímeros, como o amido, são considerados tecnologia limpa ou verde, mas apresentam algumas desvantagens, como baixa flexibilidade, baixas propriedades mecânicas e susceptibilidade a absorção de água, devido à sua natureza hidrofílica, fatores que dificultam a utilização desses materiais na superfície de frutos (Gutiérrez, 2017). Assim, faz-se necessário a adição de agentes plastificantes nas formulações, utilizando-se substâncias de baixo peso molecular com a finalidade de melhorar as propriedades mecânicas dos filmes, uma vez que tendem a diminuir a interação entre as cadeias de amido intensificando sua mobilidade, promovendo dessa forma aumento na resistência dos recobrimentos (Jiménez et al., 2012; Silva et al., 2019). Alguns desses

materiais estruturantes podem desempenhar atividade antimicrobiana, sendo utilizados como uma alternativa ao controle de doenças ou de reações degradativas da qualidade dos frutos (Guimarães et al., 2017; Treviño-Garza et al., 2017; Zhang et al., 2017).

O plastificante mais utilizado para a formulação de filmes e recobrimentos biodegradáveis tem sido o glicerol, substância compatível com o amido, é encontrada naturalmente na forma combinada como glicídios, lipídeos presentes nos tecidos de animais e vegetais ou nos derivados do petróleo. Essa molécula pequena consegue facilmente o acesso entre as cadeias de polissacarídeos através de ligações de hidrogênio e promovem uma melhor plasticidade e flexibilidade, o que melhora a estrutura e propriedade de barreira dos recobrimentos (Silva et al., 2019; Souza et al., 2011).

No entanto, como alternativa inovadora e de origem natural a este plastificante, os solventes naturais eutéticos profundos (NADES) têm sido utilizados em uma ampla variedade de campos (Tomé et al., 2018) e possuem propriedades com potencial para a substituição de solventes orgânicos convencionais derivados do petróleo, como o glicerol (Decaen et al., 2017). Os NADES são produzidos a partir de recursos renováveis e apresentam diversas vantagens como biodegradabilidade, utilização de substâncias com finalidade específicas, não volatilidade, não inflamabilidade, baixa toxicidade, baixos custos e simples preparação (Espino et al., 2016; Lapeña et al., 2019), podendo também agir como inibidores no crescimento de fungos em alimentos (Juneidi et al., 2016) ou potencializar características nutricionais ou funcionais (Espino et al., 2016; Mditshwa et al., 2017) essas que facilitam sua produção com grau alimentar.

A produção de NADES se dá a partir de mistura simples de dois componentes capazes de formar uma fase líquida chamada de mistura eutética (Zhang et al., 2012). Entre diversos componentes utilizados para a formulação de NADES o cloreto de colina, sal de amônio, tem sido a principal base para produção desses produtos (Tomé et al., 2018) combinados geralmente a ácidos orgânicos, que são bons doadores de hidrogênio, como o ácido ascórbico (Liu et al., 2018), ácido orgânico de extrema importância, facilmente encontrado de forma natural em frutos e hortaliças, tem sido utilizado na conservação de alimentos (Rostami et al., 2019), na fabricação de embalagens inteligentes (Kour et al., 2013), por atuarem na minimização de danos ocasionados pelos radicais livres (Mditshwa et al., 2017) conferindo-lhe assim, caráter funcional a esse composto.

Diante disso, a utilização de NADES como plastificante, visando a substituição do glicerol em recobrimentos biodegradáveis é uma alternativa viável, sustentável e possibilita a incorporação eficiente de moléculas de grande potencial na conservação pós-colheita de frutos

e hortaliças, como o ácido ascórbico. Esses fatores combinados possuem grande potencial tecnológico e inovador na manutenção da qualidade, preveni desordens fisiológicas, mantem a segurança alimentar e a estabilidade microbiológica. No entanto, é preciso explorar eminentemente o uso de NADES como agente plastificante, bem como o seu potencial em agregar valor, e em propiciar a manutenção da qualidade e prolongamento da vida útil pós-colheita no armazenamento de frutos.

Neste contexto objetivou-se avaliar a qualidade e as propriedades funcionais de infrutescências de abacaxizeiro ‘Pérola’ sob recobrimentos biodegradáveis à base de amido de mandioca, adicionados de NADES de cloreto de colina e ácido ascórbico, durante o armazenamento em condição ambiente.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Origem da matéria prima e colheita

Infrutescências de abacaxizeiro (*Ananas comosus comosus*) da cultivar Pérola foram colhidos manualmente no estágio de maturidade comercial, entre 6 e 9 h da manhã, em plantios comerciais, conduzidos sob tratos culturais usuais, na comunidade Tucuns município de Sapé, Paraíba, Brasil. As infrutescências foram acondicionadas em caixas de polietileno e transportados para o laboratório, onde foram selecionados e sanificados.

Raízes de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) oriundas de plantios da agricultura familiar do município de Areia, PB, foram transportadas ao Laboratório de Biologia e Tecnologia Pós-Colheita para extração da fécula conforme Lima et al. (2012).

Formulação do solvente natural eutéticos profundo (NADES)

O solvente natural eutéticos profundo (NADES) foi obtido da combinação de ácido ascórbico com cloreto de colina. Os componentes foram colocados em balão de vidro selado, adicionado água ultrapurificada, aquecidos e agitados até a formação de uma mistura eutética líquida e translúcida (Abbott et al., 2004). Em seguida, a mistura foi rotaevaporada e os H⁺ livres presentes no NADES foram neutralizados com bicarbonato de sódio, sendo o excesso e o sal formado removido por sucessivas centrifugações.

Preparação dos recobrimentos biodegradáveis

As soluções filmogênicas foram preparadas a partir de suspensões aquosas de fécula de mandioca a 2,5% sob aquecimento controlado até atingir a temperatura de 70°C. O NADES a 0,75% e/ou glicerol a 0,75%, foram adicionados na fase de resfriamento da solução filmogênica. Todas as concentrações usadas na formulação dos filmes foram determinadas

com base em testes prévios com diferentes concentrações de fécula de mandioca e agentes plastificantes (glicerol e NADES).

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x6, sendo 4 recobrimentos e seis períodos de avaliação, com três repetições compostas por uma infrutescência cada. Para as variáveis perda de massa e produção de CO₂ utilizou-se de parcelas subdivididas no tempo.

Aplicação dos recobrimentos

Os abacaxis foram sanificados com solução de hipoclorito de sódio a 50 mg L⁻¹, por 1 minuto. Após secagem em condição ambiente, os seguintes recobrimentos foram aplicados: controle (C), sem recobrimento; Fécula de mandioca a 2,5 % + NADES 0,75% (NADES+F); Fécula a 2,5 % + Glicerol 0,75% (F+G); Fécula a 2,5 % + Glicerol 0,375% + NADES 0,375% (F+G+NADES). Os abacaxis foram imersos nos respectivos recobrimentos por 1 minuto e secos ao ar na condição ambiente na posição perpendicular, sob telas de aço inox as nificadas.

Após secagem, os frutos foram armazenados em bandejas de poliestireno expandido e armazenados em condição ambiente (24±3°C e 74±3% UR) durante 19 dias, sendo avaliados a cada 5 dias durante os 10 primeiros dias de armazenamento e após esse período as avaliações ocorreram a cada 3 dias.

Avaliações

Produção de CO₂ e perda de massa - Para determinação da taxa respiratória as infrutescências de abacaxizeiro foram acondicionadas em recipientes dotados de entrada e saída controlada de ar sob sistema de fluxo contínuo de gás. As leituras foram iniciadas após 24 horas e realizadas com intervalos de 12 horas durante oito dias. Amostras de ar do sistema foram coletadas com auxílio de uma seringa de insulina de 1 mL, sendo injetada 0,1 mL utilizando-se analisador de CO₂ Sable Systems PA-10 (Palo Alto – CA-USA). Os resultados foram expressos em mg de CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹ e calculadas conforme Nakamura et al. (2003).

Perda de massa (%) - foi determinada pelo percentual acumulado obtido por diferença em relação à massa inicial (Lima et al.,2012).

Avaliação objetiva da cor - Os parâmetros de cor Luminosidade L*, Cromaticidade C e Ângulo Hue (°H) foram obtidos por duas leituras objetivas na região equatorial da superfície da polpa das infrutescências usando colorímetro digital Minolta.

Firmeza, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (TA) - A firmeza (N) foi determinada através do penetrômetro manual Magness Taylor Pressure Tester em duas leituras equidistantes na

região equatorial das infrutescências (Lima et al., 2012). Os sólidos solúveis (SS) foram determinados por leitura direta com refratômetro tipo Abbe com controle de temperatura (20 °C) (IAL, 2008). Acidez titulável (AT) foi determinada por titulometria com solução de NaOH 0,1M, sendo os resultados expressos em g ácido cítrico/100g de polpa fresca (IAL, 2008).

O teor de ácido ascórbico - Foi determinado por titulação com solução de DFI (2,6-diclorofenolindofenol 0,002%) até que uma cor rosa se mantivesse por 15s, os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de polpa fresca (AOAC, 2005).

Teor de flavonoides amarelos - Os teores de flavonoides amarelos foram determinados de acordo com Francis (1982) e os resultados foram expressos em mg 100g⁻¹.

Polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante total por DPPH^{*} - O extrato fenólico para determinação dos polifenóis extraíveis totais e atividade antioxidante foi obtido conforme metodologia utilizada por Dantas et al. (2015), sendo utilizado 7 g de polpa de abacaxi 'Pérola'. Os polifenóis extraíveis totais (PET) foram obtidos por uma alíquota de 200 µL mL⁻¹ do extrato fenólico, os resultados foram calculados com base na linearidade da curva padrão de ácido gálico (0 a 50 mg g⁻¹) e expressos como equivalentes de ácido gálico (GAE) mg 100 g⁻¹. A atividade antioxidante total (AAT) foi determinada pela captura do radical livre DPPH^{*} (1,1'-diphenil-2-picrilhidrazil) de acordo com (Dantas et al. 2015). Onde uma alíquota de 100 µL foi retirada de três diluições (200, 600 e 1000 µL/mL) em triplicata, ao qual foram adicionados 3,9 mL do radical (0,06mM). Como controle, foram utilizados 100 µL da solução de controle (álcool metílico 50% + 70% de acetona + água, razão 4: 4: 2) em vez de extrato fenólico. As leituras foram realizadas a 515 nm em espectrofotômetro, 30 minutos após a adição do radical DPPH^{*}, e considerando a estabilização da absorbância como base. A atividade antioxidante total (g de polpa. g DPPH⁻¹) foi calculada estimando EC₅₀ (quantidade da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH^{*}).

Análise sensorial

Foi realizada análise sensorial através de testes de aceitação com escala hedônica estruturada, por intermédio de ficha sensorial utilizando 10 painelistas treinados, familiarizados com o produto e com o procedimento de pontuação.

As amostras foram compostas de uma infrutescência por recobrimento para as avaliações de aparência, e de três infrutescências para as avaliações de flavor, no qual essas foram cortados em cubos de aproximadamente dois cm³ e servidos aos provadores, em copos descartáveis, em cabines fechadas, sob luz vermelha. Para as avaliações de escurecimento e translucidez foram montadas escalas estruturadas com fotos e pontos, utilizando-se três

rodela de cada infrutescência recobertas. Todas as avaliações foram realizadas no período de 0 a 19 dias, sendo a cada 5 dias durante os 10 primeiros dias de armazenamento e após esse período as avaliações ocorreram a cada três dias (Meilgaard et al., 2007).

Na avaliação de aparência utilizou-se escala para as características de cor (1=verde; 2=início de pigmentação; 3=verde amarelado; 4=predominantemente amarelo; 5=amarelo); Brilho (1=ausente; 2=pouco; 3=regular; 4=moderado; 5=forte); Presença de danos (1=ausente; 2=pouco; 3=regular; 4=moderado; 5=forte); aparência (1=gostei muito; 2=gostei; 3=nem gostei/nem desgostei; 4=desgostei; 5= desgostei muito) e aceitação geral (1=gostei muito; 2=gostei; 3=nem gostei/nem desgostei; 4=desgostei; 5= desgostei muito).

Na avaliação de escurecimento e translucidez utilizou-se escalas estruturadas com fotos e pontos sendo para escurecimento (1= ausência de escurecimento; 3= início de escurecimento; 5= escurecimento moderado; 7= escurecimento acentuado; 9= extremamente escurecido) e para translucidez (1= ausência de translucidez; 3= início de translucidez; 5= translucidez moderado; 7= translucidez forte; 9= extremamente translúcido). Para as avaliações de flavor utilizou-se escala para odor característico, odor estranho, sabor característico, sabor estranho (9=muito forte; 7=forte; 5=moderado; 3=ligeiro; e 1= fraco ou ausente); intenção de compra (5= certamente compraria o produto; 4= possivelmente compraria o produto; 3= talvez comprasse/talvez não comprasse; 2= possivelmente não compraria o produto; 1= certamente não compraria o produto).

Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) pelo teste F ($p \leq 0,05$). Para os dias de armazenamento e para a interação entre recobrimentos e dias de armazenamento, aplicou-se análise de regressão polinomial até segundo grau, considerando modelos ajustados que apresentaram coeficiente de determinação (R^2) igual ou superior a 60%. Para comparar os recobrimentos foi aplicado teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Utilizou-se o software SAS[®] 9.3 (2011) para a realização destas análises.

Realizou-se ainda Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise de Agrupamento a partir dos escores calculados na ACP. Para selecionar as CP utilizou-se o critério de Jolliffe (2002) e variância acumulada mínima de 70%. A análise de grupos foi realizada a partir do procedimento cluster.Sim do R[®] em que o número ótimo de grupos é definido combinando-se diferentes fórmulas de normalização, medidas de distância, métodos de cluster e Calinski-Harabasz indece.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Produção de CO₂, Perda de massa e Firmeza

A produção de CO₂ é um dos principais indicadores da intensidade do metabolismo vegetal, que depende de fatores externos e internos, como estágio de maturação, temperatura e tempo de armazenamento. Nesse contexto, infrutescências de abacaxizeiro ‘Pérola’ sem recobrimento (C) apresentaram as maiores taxas de produção de CO₂ durante o armazenamento, na faixa de 18,07 mg de CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹, com contínua redução típica de fruto de padrão respiratório não-climatérico até o 5º dia de armazenamento seguido de acréscimo do 5º ao 6º dia, como indicativo de maturação avançada, seguido novamente decréscimo do 6º dia até o final do armazenamento (Figura 1 A). Este aumento da taxa respiratória (TR) no 6º dia de armazenamento é um indicativo de senescência nos abacaxis do controle, uma vez que, a produção excessiva de CO₂ consome os substratos disponíveis resultando no processo de senescência, encurtando, assim, a vida útil das infrutescências (Li et al., 2018). A produção de CO₂ aqui reportadas se aproximam aos do abacaxi ‘Phulae’ que apresentaram produção de CO₂ em torno de 32,52 mg de CO₂ kg⁻¹h⁻¹ (Techavuthiporn et al., 2017). Abacaxis recobertos com G+F e NADES+G+F apresentaram taxa de produção de CO₂ muito próximas, mas inferiores ao controle durante o armazenamento, indicando redução da taxa metabólica. Abacaxis com estes recobrimentos apresentaram contínua redução da TR até o 4º dia, entre quatro e cinco dias houve uma estabilização da produção de CO₂ seguido de leve acréscimo do 5º ao 6º dia, tendo novamente decréscimo do 6º dia até o final do armazenamento. No entanto, abacaxis recobertos com G+F apresentaram as maiores taxas respiratórias no 6º dia de armazenamento quando comparadas com aqueles recobertos com NADES+G+F e NADES+F. Por sua vez, quando o solvente natural eutético profundo foi combinado isoladamente na matriz de fécula de mandioca (NADES+F) houve menor produção de CO₂ pelas infrutescências durante o armazenamento na condição ambiente, com concentrações variando de 15,25 a 7,57 mg de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Figura 1A). Este comportamento indica que esta combinação apresenta potencial na redução da taxa metabólica do abacaxi ‘Perola’ e pode proporcionar a manutenção da qualidade por um maior período, prolongando sua vida útil pós-colheita.

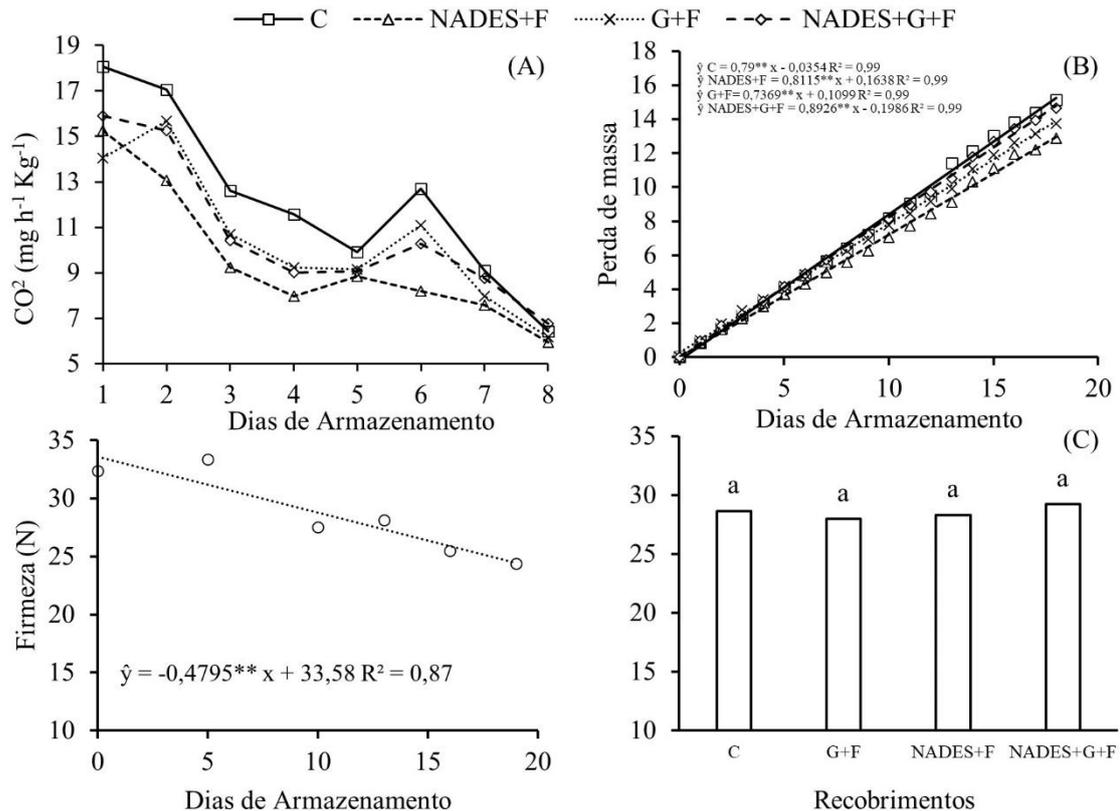


Figura 1. Taxa respiratória (A), Perda de massa (B) e Firmeza (C) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 8 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74 \pm 3\%$ U.R).

Resultados similares foram reportados em infrutescências de abacaxi cv. ‘Comte de Paris’ recobertos com cera que apresentaram menor taxa respiratória quando comparadas ao controle durante 15 dias de armazenamento (Li et al., 2018). Esses autores atribuíram ao fato de que o recobrimento a base de cera provocou a inibição do consumo de açúcares na via da glicólise e no ciclo do ácido tricarbóxico, apontando que essa seria a principal rota de respiração e consumo de substratos do abacaxi durante o armazenamento. Nesse sentido, apesar de ser uma infrutescência não-climatérica, o abacaxi pode apresentar processos oxidativos e mudanças biosintéticas durante a maturação (Léchaudel et al., 2018), o que em parte justifica as variações ocorridas na produção de CO_2 do abacaxi ‘Pérola’ durante o armazenamento.

A perda de massa foi influenciada pelos recobrimentos utilizados durante o armazenamento, apresentando comportamento linear crescente (Figura 1B). Os recobrimentos

NADES+F e G+F proporcionaram menor perda de massa nas infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ quando comparados ao Controle (Figura 1B), indicando, assim, a eficiência destes em manter a qualidade de abacaxi ‘Pérola’, atuando eficientemente como barreiras poliméricas para redução do vapor de água das infrutescências proporcionando uma menor perda de massa. Por sua vez, os frutos do tratamento controle (C) seguidos da combinação de NADES+G+F proporcionaram maior perda de massa nas infrutescências. Para Basiak et al. (2019) a perda de massa é causada majoritariamente pela perda de água ocasionada facilmente em frutos sem recobrimentos ao longo de armazenamentos devido ao equilíbrio entre o fruto e o ambiente.

A firmeza das infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ diminuiu durante o armazenamento, apresentando valores que variou de 34 N a 25 N (Figura 1C). A diminuição da firmeza normalmente ocorre devido ao processo de maturação, o qual provoca alterações na composição da parede celular pela degradação das substâncias pécticas (Tehrani et al., 2011). As alterações na parede célula é decorrente da atividade de enzimas como metilesterases de pectina, pectatase, galactosidase entre outras (Liu e Liu, 2017).

Avaliação objetiva da Cor

Para a Luminosidade (L) não houve interação significativa entre os períodos de avaliação e os recobrimentos aplicados, porém durante o tempo de armazenamento observou-se aumento nas infrutescências recobertas do início até o 5º dia de armazenamento, entre o 5º dia e o 16º dia houve um declínio em L, que voltou a aumentar no final do armazenamento (Figura 2A). Os valores de L aqui reportados se aproximam aos de Ferreira et al. (2016) que constatarem luminosidade de 74,69 em abacaxi ‘Pérola’ e de 65,96 para abacaxi ‘Gomo de Mel’; Viana et al. (2013) reportaram em abacaxi ‘Imperial’ luminosidade de 60,20.

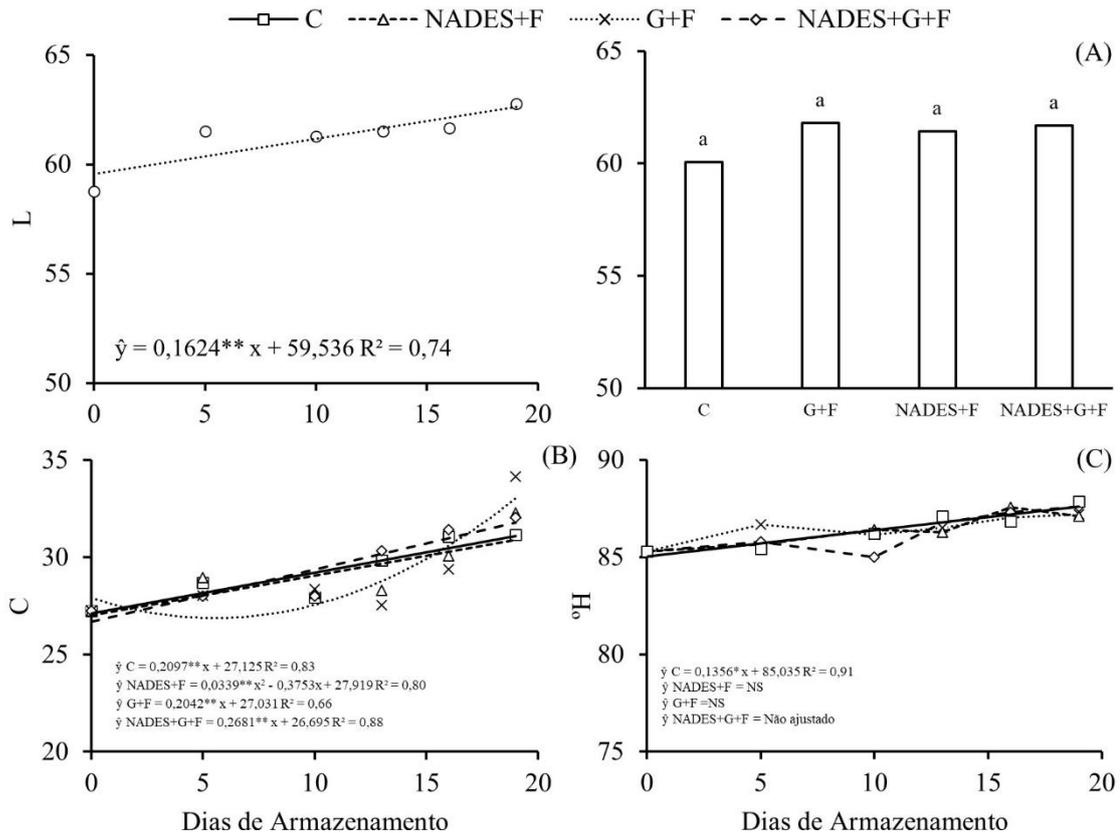


Figura 2. Luminosidade L^* , Cromaticidade C e Ângulo Hue ($^{\circ}H$) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74 \pm 3\%$ U.R).

A cromaticidade (C) apresentou interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos, aumentando durante o armazenamento para abacaxis de todos os recobrimentos (Figura 2B). Infrutescências recobertas até o 10º dia de armazenamento apresentaram comportamento similares com médias bem próximas do 13º até o final do armazenamento. Infrutescências recobertas com (NADES+G+F) e infrutescências do controle apresentaram aumento na cromaticidade, enquanto as infrutescências recobertas com (G+F) apresentaram os menores valores de cromaticidade, seguidos das infrutescências recobertas com (NADES+F) até o 16º dia, seguidos de aumento com destaque para as infrutescências recobertas com (G+F) que apresentaram os maiores valores ao final do armazenamento (Figura 2B). Valores de cromaticidade similares foram reportados por Viana et al. (2013) que constatarem respectivamente 25,66 e 33,67 para abacaxis ‘Smooth Cayenne’ e híbrido PE x SC-73. Li et al. (2018) também constatarem aumento na cromaticidade (C^*)

com valores variando de 28 a 42 durante a maturação de cultivares de abacaxi ‘Comte de Paris’ recobertos com cera.

O ângulo de cor ($^{\circ}\text{H}$) apresentou interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos, aumentando durante o armazenamento para abacaxis de todos os recobrimentos, com valores variando de 85 a 88 de $^{\circ}\text{H}$ (Figura 2B), próximos aos constatados por Viana et al. (2013) que variou de 95,40 a 99,74 em abacaxis ‘Smooth Cayenne’ e híbrido PE x SC-73.

Sólidos solúveis (SS), acidez titulável (TA)

Os sólidos solúveis (SS) do abacaxi Pérola aumentaram de forma quadrática durante o armazenamento, com teores variando de 10 a 13%, sendo as infrutescências do controle as que apresentaram os maiores teores, seguidos dos frutos recobertos com (NADES+F) e dos recobertos com (NADES+G+F) no 5^o dia de armazenamento. Por sua vez, infrutescências recobertas com (G+F) apresentaram aumento nos teores de SS até 10^o dia seguidos de decréscimo no 13^o dia. As infrutescências recobertas com (NADES+F) e (NADES+G+F) apresentaram aumento no teor de sólidos solúveis até o 13^o seguidos de decréscimo até o final do armazenamento (Figura 3A). Abacaxi ‘Phulae’ apresentou comportamento similar cujo conteúdo de SS aumentou acentuadamente durante os primeiros 14 dias e diminuiu gradualmente até o final do armazenamento (Sari et al., 2016). Os teores de SS aqui reportados se assemelham aos de DiFonzo et al. (2019) que relataram teores de 12,57 a 13,07% de SS em polpa de abacaxi. Por sua vez, Finnegan e O’Beirne (2015) relataram teores de SS variando de 12,7 e 12,3% em abacaxi Gold e MD2, respectivamente, também próximos os de abacaxi ‘Pérola’ deste trabalho.

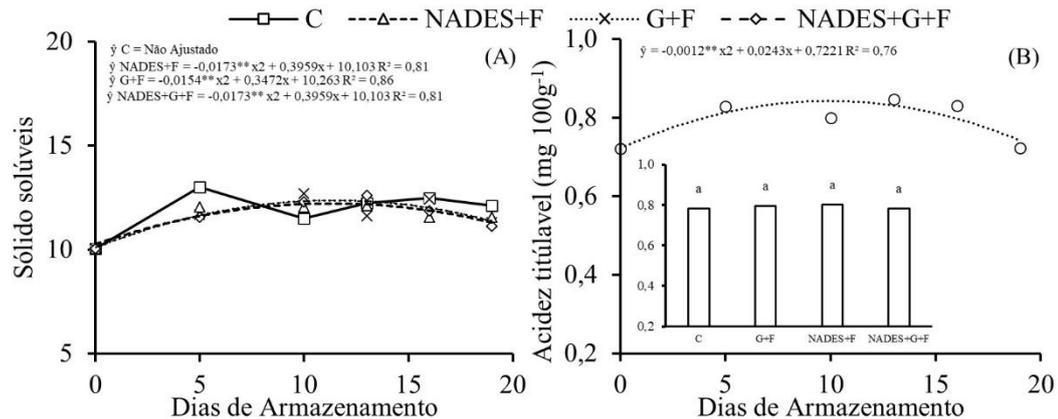


Figura 3. Sólido solúveis (A) e Acidez titulável (B) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R.).

O teor de ácido ascórbico apresentou interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos, aumentando durante o armazenamento para abacaxis de todos os recobrimentos, com teores variando de 29,46 a 47,55 mg de ácido ascórbico por 100g^{-1} (Figura 4 A). Estes teores se aproximam aos relatados por Rodríguez et al. (2017) que constatarem em abacaxi ‘Perola’ 52 mg de ácido ascórbico 100g^{-1} e aos de Ferreira et al. (2016) que constatarem em polpa de abacaxi ‘Perola’ teores de ácido ascórbico de 49,79 mg 100g^{-1} . Por sua vez, Léchaudel et al. (2018) constatarem teores de ácido ascórbico em abacaxi ‘MD2’ ‘Vitória’ e ‘Flhoran 41’ de 44,7 a 53,7; 23,3 a 25,0 e de 21,6 a 20,5 mg de ácido ascórbico 100g^{-1} , respectivamente. Esses autores atribuíram essa variação nos teores de ácido ascórbico ao processo de maturação e estágio de desenvolvimento dos frutos. Os abacaxis recobertos com (NADES+F) apresentaram os maiores teores de ácido ascórbico, indicando redução das taxas dos processos oxidativos, também corroborado pela menor taxa respiratória, seguidos dos recobertos com (NADES+G+F) e (G+F) até o 13º dia de armazenamento quando se observou um decréscimo nos teores (Figura 4 A). Estes comportamentos diferem do reportado por DiFonzo et al. (2019) que relataram uma diminuição significativa nos teores de ácido ascórbico na polpa de abacaxi após 14 dias de armazenamento. O teor de ácido ascórbico é de grande importância para determinação da qualidade na pós colheita de frutos, pois é usado como um indicador de estresse oxidativo exercido durante o armazenamento (Chakraborty et al., 2015).

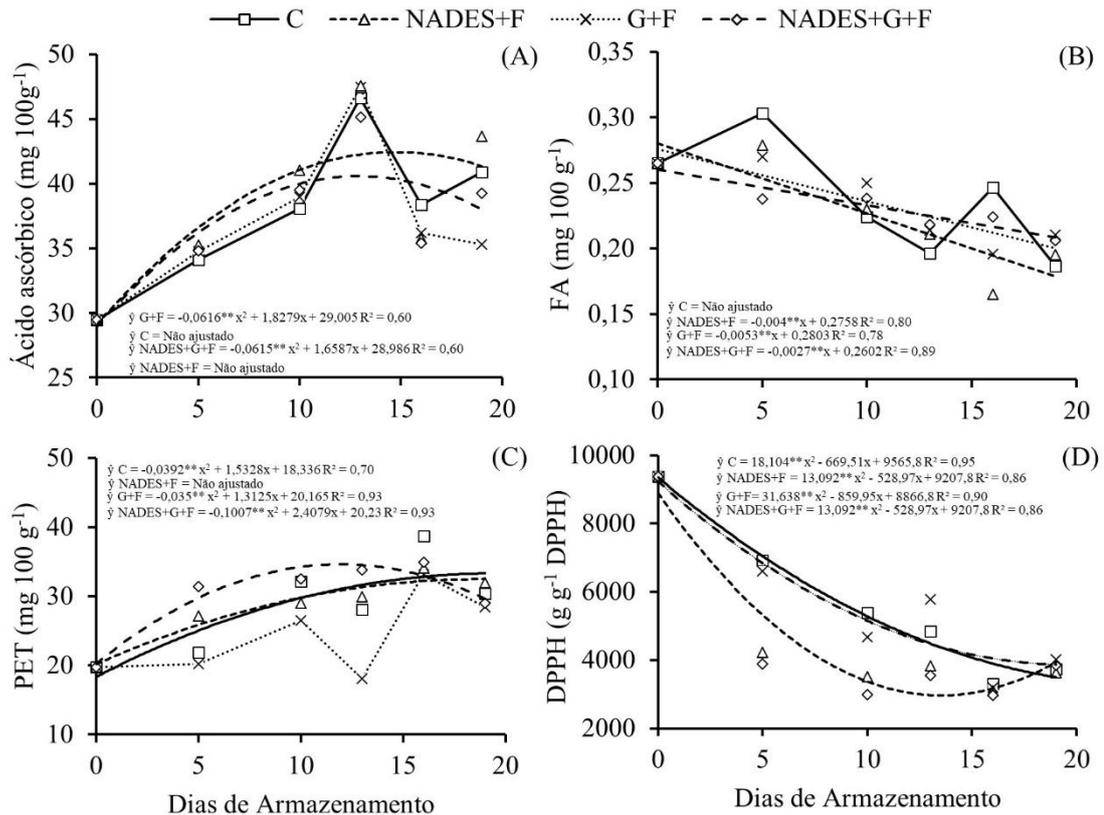


Figura 4. Teores de compostos bioativos, ácido ascórbico (A), flavonoides amarelos (B), fenólicos extraíveis totais – PET (C) e Atividade antioxidante total (D) pelas metodologias de captura dos radicais DPPH• de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 85 ± 5 % U.R).

O teor de flavonoides amarelo apresentou redução linear durante o armazenamento na polpa de abacaxis de todos os recobrimentos, apresentando teores que variaram de 0,28 a 0,19 mg 100g⁻¹ (Figura 4 B), com exceção para as infrutescências do controle (C) que apresentaram teores superiores aos demais recobrimentos no 5º dia de armazenamento seguido de um decréscimo, como indicativo de evolução mais rápida da maturação. Por sua vez, infrutescências recobertas com (G+F) apresentaram uma diminuição nos teores de flavonoides amarelos até o 16º dia de armazenamento, apresentando maiores teores ao 10º dia de armazenamento quando comparado aos demais (figura 4 B). Os flavonoides amarelos das infrutescências recobertas com (NADES+G+F) mantiveram-se constantes durante o armazenamento com teor médio de 0,23 mg 100⁻¹. Por sua vez, abacaxis recobertos com

(NADES+F) apresentaram aumento nos teores de flavanoides amarelos até o 5º dia seguido de decréscimo até o 16º dia (figura 4 B). Essas variações nos conteúdos de flavanoides pode ser explicado pela estrutura dos tecidos vegetais dos abacaxis que podem sofrer rompimento e degradação ao longo do armazenamento, variações na temperatura o que provoca degradação dos fenólicos e ao aumento da atividade da polifenoloxidase e peroxidase, enzimas que podem consumir fenólicos levando a sua diminuição (Rodríguez et al., 2017).

Abacaxi 'Pérola' recobertos com (G+F) apresentaram acréscimo nos teores de polifenóis extraíveis totais (PET) do 5º ao 13º dia de armazenamento, seguido de um declínio até o final do armazenamento, apresentando os maiores teores no 13º dia com média de 26,8 mg 100g⁻¹. Abacaxis recobertos com (NADES+F) apresentaram comportamento quadrático nos teores de PET com incremento durante todo o período de armazenamento, apresentando os maiores teores no 16º dia. Por sua vez, abacaxis recobertos com (NADES+G+F) apresentaram os maiores teores de PET durante todo o armazenamento quando comparado com abacaxis dos demais recobrimentos e mostraram comportamento quadrático, tendo os maiores teores de PET no 13º dia de armazenamento com média de 30,23 mg 100g⁻¹ (Figura 4 C). Esta redução nos teores de PET ao final do armazenamento aqui reportados se assemelha aos comportamentos descritos por DiFonzo et al. (2019) que constataram diminuição significativa nos teores de PET na polpa de abacaxi MD2 após 14 dias de armazenamento. Entretanto, os teores de PET aqui reportados foram inferiores aos relatados por Paz et al. (2015) que constataram em polpa de abacaxi 329 mg 100 g⁻¹, porém Bamidele e Fasogbon (2017) relataram teores de fenólicos em abacaxi 'Cayenne' de 19,04 mg 100g⁻¹, mas em abacaxi 'Queen' os teores de fenólicos variaram de 35,05 a 41.66 mg 100g⁻¹ (Chakraborty et al., 2015). Jovanovic et al. (2018) relataram teores de fenólicos em polpa de abacaxi de 22,99 mg 100 g⁻¹, próximos aos deste trabalho. Isso aponta a eficiência dos recobrimentos em manter o teor de fenólicos durante o armazenamento pela redução das taxas dos processos oxidativos. Entretanto, as variações nos teores de PET podem ser decorrentes de diversos fatores, como estrutura química dos polifenóis e presença de compostos que podem interagir com os polifenóis (Jovanovic et al., 2018).

A atividade antioxidante medida pela captura do radical DPPH[•] foi expressa em g de polpa g⁻¹ de DPPH[•], ou seja, quanto menor a quantidade de gramas de polpa necessárias para reduzir gramas de DPPH[•] maior será a atividade antioxidante. A aplicação dos recobrimentos no abacaxi 'Pérola' aumentou a atividade antioxidante dos abacaxis durante o armazenamento, com destaque para os recobertos com (NADES+F) e (NADES+G+F) com maior atividade antioxidante, seguidos dos abacaxis recobertos com (G+F). Abacaxis do

controle apresentaram aumento na capacidade de sequestro do DPPH* indicando menor atividade antioxidante e maior taxa de processos oxidativos durante o armazenamento (figura 4 D).

Esse comportamento na atividade antioxidante parece estar relacionada com os maiores teores de fenólicos extraíveis totais, uma vez que abacaxis que apresentaram baixo teor de fenólicos se mostraram com uma baixa capacidade de sequestro do DPPH* (Figuras 4 C e 4 D). Os compostos fenólicos são considerados os principais metabólitos antioxidantes ativos nas plantas (Jovanovic et al., 2018). A polpa de abacaxi geralmente apresenta baixa eficiência no sequestro dos radicais livres pelo método do DPPH, isso se dá devido os compostos fenólicos estarem ligados a outras moléculas, como carboidratos, que reduzem consideravelmente a atividade antioxidante (Paz et al., 2015). Li et al. (2014) atribuíram a variação na atividade antioxidante de abacaxis aos teores de fenólicos nos extratos e a condições climáticas e ambientais bem como manuseio pós-colheita das infrutescências.

Qualidade sensorial

Quanto a percepção do odor estranho não houve influência da interação entre os períodos de avaliação e os recobrimentos aplicados, mantendo-se a intensidade de odor estranho com predominância entre fraco e ausente. Este resultado indica que a aplicação de recobrimentos não influenciou negativamente no aroma do abacaxi (Figura 5 A). O odor característico também não foi influenciado pela interação entre os períodos de avaliação e os recobrimentos, porém o tempo de armazenamento provocou uma ascensão no odor característicos dos abacaxis recobertos, indicando que a maturação evoluiu, porém, a predominância de intensidade do odor característico manteve-se entre moderado e forte durante todo o armazenamento (Figura 5 B).

A percepção de sabor estranho pelos painelistas não foi influenciado pela interação entre os períodos de avaliação e os recobrimentos, mantendo-se a predominância do sabor estranho com intensidade entre fraco e ausente, de modo que os recobrimentos não diferiram (Figura 5 C). Quanto ao sabor característico, os painelistas não observaram influência da interação entre os períodos de avaliação e os recobrimentos, porém o tempo de armazenamento aumentou o sabor característicos das infrutescências recobertas. Em geral, predominou a intensidade do sabor característico entre moderado e forte (Figura 5 D). Assim há um claro indicativo de que os recobrimentos não afetaram negativamente as características sensoriais dos abacaxis.

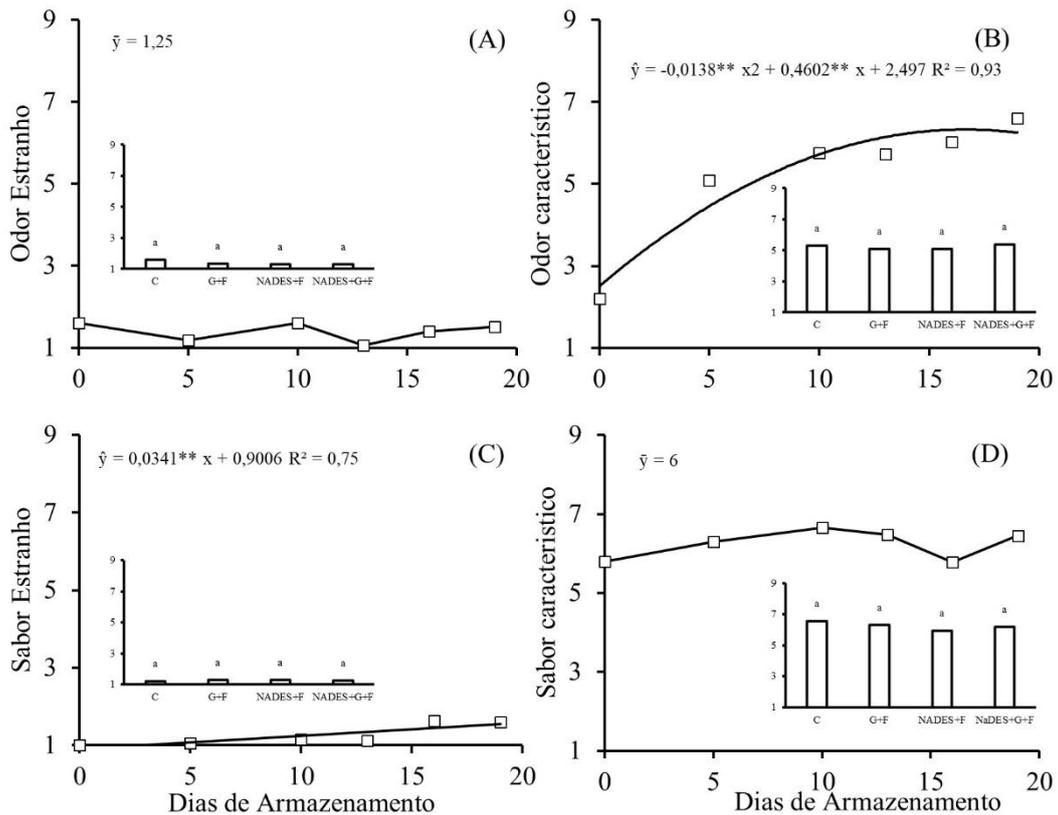


Figura 5. Odor estranho (A), odor característicos (B), sabor estranho (C) e sabor característicos (D) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 85 ± 5 % U.R.).

A percepção do escurecimento da polpa do abacaxi ‘Pérola’ pelos painelistas apresentou interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos utilizados. Abacaxis do controle apresentaram comportamento quadrático com os maiores índices de escurecimento, com intensidade de escurecimento moderada, seguido de decréscimo até o 16º dia, já os abacaxis recobertos com (G+F) mantiveram a intensidade do escurecimento ausente até o 10º dia seguida de um leve acréscimo ao final do armazenamento. Por sua vez, abacaxis recobertos com (NADES+F) mantiveram os menores índice de escurecimento de abacaxis ‘Pérola’ durante o armazenamento, apontando benefícios desta formulação para a qualidade interna e aceitação. Em contraste, os abacaxis recobertos com (NADES+G+F) apresentaram aumento no índice de escurecimento do 5º ao 16º dia seguido de decréscimo até o final do armazenamento, com predominância da intensidade do

escurecimento moderado do 13° ao 16° dia (Figura 6 A), o que pode ser um indicativo de uma efeito negativo para a qualidade da interação entre estes dois plastificantes.

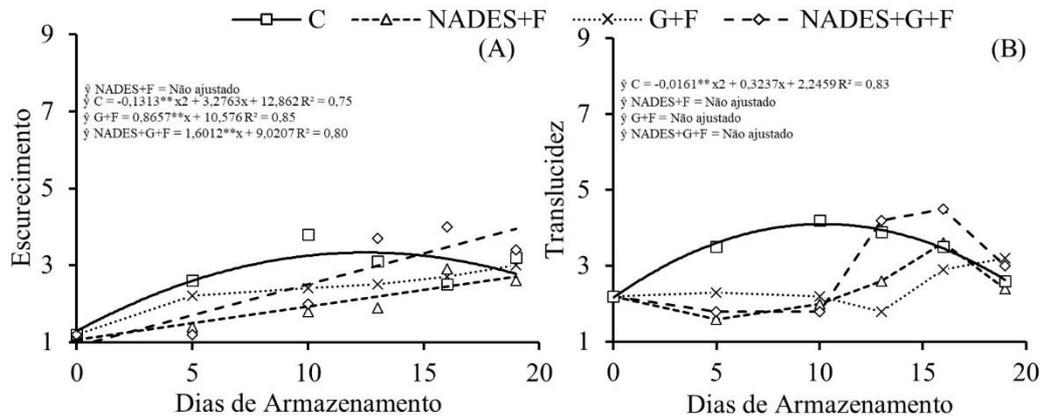


Figura 6. Escurecimento (A) e Translucidez (B) de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $85\pm 5\%$ U.R.).

A percepção pelos painelistas da translucidez na polpa do abacaxi ‘Pérola’ apresentou interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos aplicados. Abacaxis do controle apresentaram comportamento quadrático com os maiores índices de translucidez até o 13° dia seguido de decréscimo. A translucidez evoluiu mais lentamente em abacaxis recobertos com (G+F) e (NADES+F). De modo que, os com (G+F) mantiveram ausência de translucidez até o 13° dia, quando iniciou a percepção de leve translucidez e os com (NADES+F) apresentou acréscimo nos índices de translucidez no 16° dia de armazenamento, indicando o benefício deste recobrimento em manter a qualidade interna da polpa. Abacaxis recobertos com (NADES+G+F) apresentaram os maiores índices de translucidez a partir do 10° dia de armazenamento (Figura 6 B), confirmando que a associação de NADES com glicerol na matriz de fécula não beneficiou a qualidade do abacaxi.

Em relação a percepção da intenção de compra pelos painelistas observou-se interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos utilizados, de modo que as infrutescências recobertas com (NADES+F) mantiveram os maiores índices de intenção de compra até o 13° dia, seguido de leve decréscimo, com nota 4 até o 16° dia de armazenamento, indicando dessa forma que os painelistas possivelmente comprariam o

produto. As infrutescências recobertas com (NADES+G+F) apresentaram acréscimo nos índices de intenção de compra do 5º ao 10º dia seguido de leve decréscimo até o final do armazenamento, mostrando predominância pelos painelistas que possivelmente comprariam o produto. Por sua vez abacaxis recobertos com (G+F) apresentaram os menores índices de intenção de compra durante o armazenamento, indicando que os avaliadores possivelmente não comprariam o produto (Figura 7), sendo os menores índices de intenção de compra os de abacaxis do controle, indicando que a aplicação de recobrimentos é necessária para manter a qualidade de abacaxi ‘Pérola’.

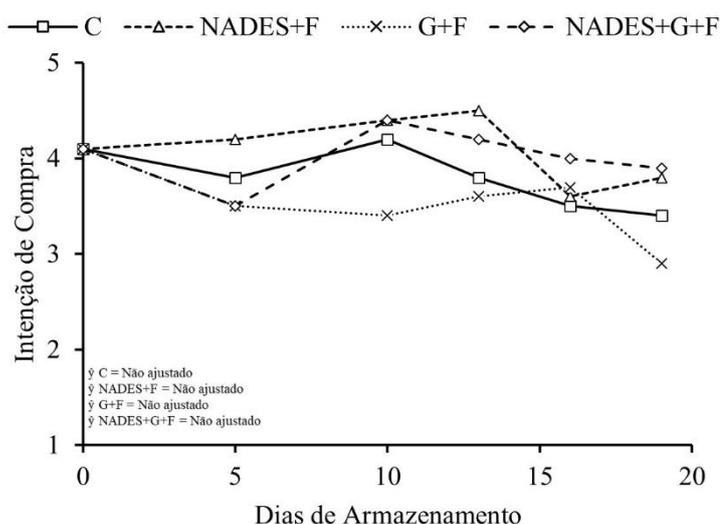


Figura 7. Intenção de compra de infrutescências de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 74 ± 3 % U.R).

A avaliação subjetiva da cor das infrutescências íntegras apresentou interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos utilizados. Abacaxis do controle apresentaram comportamento quadrático apresentando as maiores alterações na coloração, quando comparado à abacaxis dos demais recobrimentos, que evoluíram de coloração verde para verde amarelado do 5º ao 10º dia, mantendo-se assim até o 13º dia seguido de transição de verde amarelado para amarelo do 13º ao 19º dia de armazenamento. Infrutescências recobertas com (G+F) apresentaram transição na coloração do 5º ao 10º dia passando de verde para verde amarelado e mantendo-se assim até o 13º dia, seguido de transição de verde amarelado para amarelo do 13º ao 19º dia de armazenamento. Por sua vez,

abacaxis recobertos com (NADES+F) apresentaram as menores alterações na coloração, quando comparada com os abacaxis dos demais recobrimentos, evoluindo de verde para início de pigmentação do 5º ao 10º dia, seguido de transição para verde amarelado do 10º dia até o final do armazenamento (Figura 8 A).

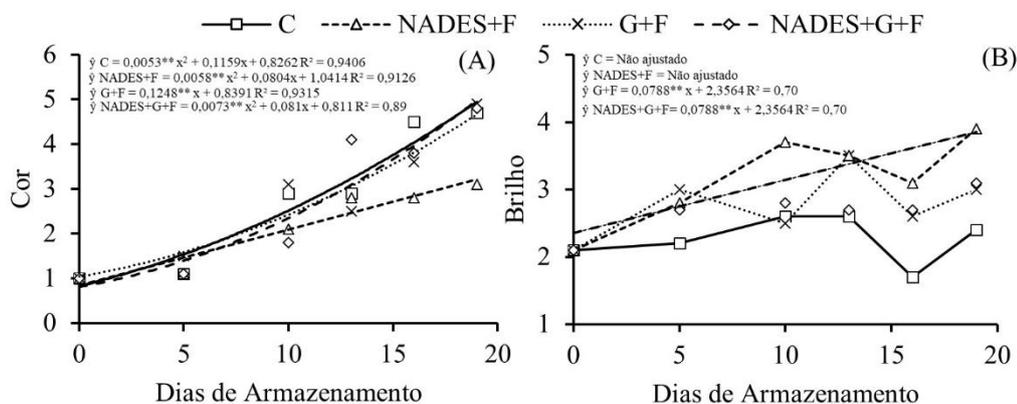


Figura 8. Cor (A) e brilho (B) das infrutescências íntegras de abacaxi 'Pérola' recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24±3 °C e 74±3% U.R.).

A avaliação subjetiva do brilho das infrutescências íntegras apresentou interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos utilizados, sendo que os abacaxis do controle apresentaram os menores índices de brilho variando de pouco a ausente ao longo do armazenamento. Por outro lado, abacaxis recobertos eram nitidamente mais brilhantes. As infrutescências recobertas com (G+F) apresentaram índices de brilho variando de pouco a regular até o 10º dia seguido de uma transição para brilho moderado no 13º dia e voltando a regular até o final do armazenamento. Por sua vez, abacaxis recobertos com (NADES+F) apresentaram os maiores índices de brilho variando de regular a moderado do 5º ao 13º passando a apresentar intensidade de brilho forte ao final do armazenamento. As infrutescências recobertas com (NADES+G+F) apresentaram índice de brilho variando de pouco a regular, que evoluiu de forma linear durante o armazenamento (Figura 8 B).

Com relação a presença de danos nas infrutescências íntegras houve interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos utilizados, de modo que abacaxis de todos os recobrimentos apresentaram ausência de danos até o 10º dia de armazenamento, sendo os abacaxis recobertos com (NADES+F) os que apresentaram menores danos quando comparado com os demais, indicando a superioridade deste

recobrimentos seguidos das infrutescências recobertas com (G+F). As infrutescências do controle apresentaram danos variando de pouco a regular do 13º dia até o final do armazenamento, de modo semelhante ao que ocorreu com infrutescências recobertas com (NADES+G+F) (Figura 9).

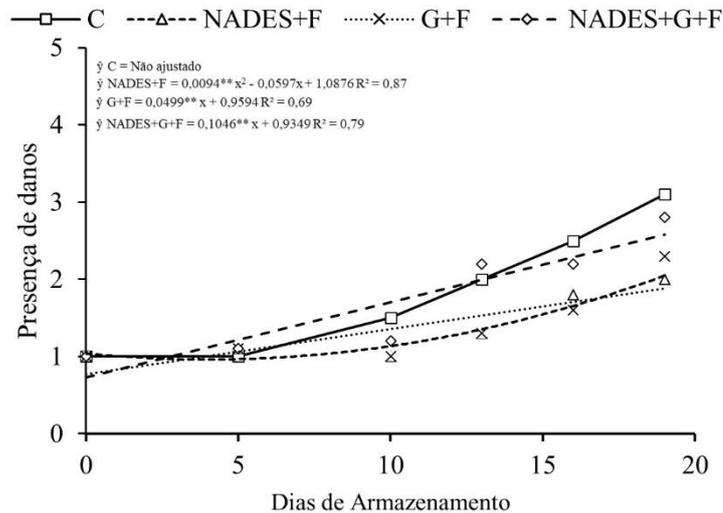


Figura 9. Presença de danos em infrutescências íntegras de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 74 ± 3 % U.R.).

Em relação a aparência das infrutescências íntegras houve interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos utilizados, sendo que os abacaxis do controle apresentaram os menores scores seguido dos abacaxis com (NADES+G+F) durante o armazenamento, indicando assim o índice de insatisfação por parte dos painelistas para abacaxis destes recobrimentos. Neste sentido, as infrutescências recobertas com (NADES+F) apresentaram os maiores scores, indicando, que estes abacaxis foram os preferidos por parte dos painelistas durante os 19 dias de armazenamento na condição ambiente, seguido pelos recobertos com (G+F), que se mostraram superiores aos do controle e (NADES+G+F) (Figura 10A).

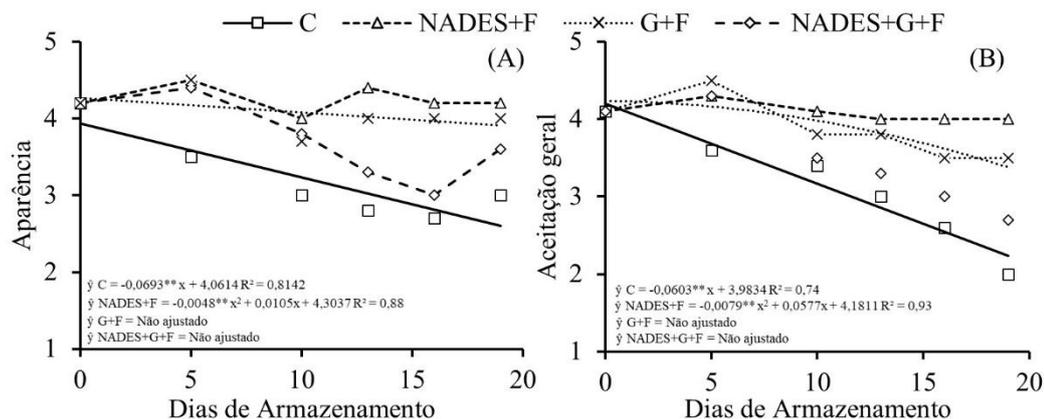


Figura 10. Aparência (A) e Aceitação geral (B) de infrutescências íntegras de abacaxi ‘Pérola’ recobertos com a associação de solvente natural eutéicos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéicos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R).

A aceitação geral das infrutescências íntegras apresentou interação significativa entre o tempo de armazenamento e os recobrimentos, sendo que abacaxis recobertos com (NADES+F) apresentaram de forma constante os maiores escores durante os 19 dias de armazenamento na condição ambiente, indicando assim que essas infrutescências foram as de maior aceitação por parte dos painelistas. Comportamento similar foi observado para abacaxis recobertos com (G+F) que se mostraram superiores aos do controle e (NADES+G+F) estando abaixo apenas dos abacaxis recobertos com (NADES+F) indicando sua aceitação por parte dos painelistas para essas infrutescências durante o armazenamento. Abacaxis do controle apresentaram os menores escores seguidos dos recobertos com (NADES+G+F) durante o armazenamento, indicando assim o índice de insatisfação por parte dos painelistas destas infrutescências (Figura 11 B). As variações nas características sensoriais em abacaxi são tidas como normais e causadas pelos processos de degradação que ocorrem durante o armazenamento, podendo causar deterioração na aparência, firmeza, aroma descoloração e translucidez nos tecidos da polpa (Finnegan e O’Beirne 2015).

Em conjunto, os escores atribuídos pelos painelistas demonstram que a utilização de recobrimentos proporcionam manutenção da qualidade comercial ao longo do armazenamento, de modo que as características de odor, sabor e aparência não foram afetadas negativamente pelos recobrimentos aplicados durante o armazenamento, indicando assim, que o uso destes não produziram sabores residuais detectáveis nas infrutescências de abacaxi ‘Pérola’. Em relação a translucidez abacaxis recobertos (NADES+F) e (G+F) apresentaram os

menores índices, entretanto o (NADES+F) manteve a aceitação de compra por maior período durante o armazenamento quando comparados aos do controle. Alterações na cor e no brilho das infrutescências foram mais perceptíveis no controle e (G+F) respectivamente. Em abacaxis com recobrimentos (NADES+F) e (G+F) mantiveram ausência de danos nas infrutescências durante todo o período de armazenamento. Em relação a aparência, aceitação geral e intenção de compra abacaxis recobertos com (NADES+F) e (G+F) mantiveram a qualidade visual do produto durante o armazenamento na condição ambiente, mostrando que, o uso dos recobrimentos biodegradáveis a base de NADES proporciona um aumento da vida útil pós colheita de abacaxi ‘Pérola’ sendo uma alternativa viável a substituição do glicerol.

Análise de Componentes principais e Correlação

A análise de componentes principais explicou 86,3% da variância entre os recobrimentos com apenas dois componentes principais (CPs). Na Tabela 1 pode-se observar as contribuições das variáveis para os dois primeiros CPs, que por sua vez, contribuem para a discriminação de três grupos de recobrimentos, considerando, simultaneamente, seus efeitos sobre variáveis físicas, físico-químicas, atividade antioxidante e características sensoriais de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ após 19 dias de armazenamento.

Tabela 1. Autovetores dos dois componentes principais (CP1 e CP2) para as variáveis relacionadas com as características físicas, físico-química, atividade antioxidante e sensorial de infrutescências de abacaxizeiro ‘Pérola’ recobertas com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e 74 ± 3 % U.R).

Variáveis originais	Componente Principal 1	Componente Principal 2
L	0,199	-0,200
c	-0,180	-0,235
H	-0,022	0,317
Firmeza	-0,256	0,172
SS	0,125	0,268
Acidez titulável	-0,072	0,283
Ácido ascórbico	0,292	0,035
Flavonoides amarelos	-0,173	-0,254
PET	0,290	0,001
DPPH	-0,289	-0,069
Perda de massa	-0,109	0,293
Odor característico	0,216	0,222
Odor estranho	0,097	0,312
Sabor estranho	-0,066	-0,223
Sabor característico	0,278	0,100
Intenção de compra	0,195	-0,029
Cor	-0,268	0,137
Brilho	0,191	-0,263
Presença de danos	-0,271	0,100
Aparência	0,089	-0,328
Aceitação geral	0,264	0,122
Translucidez	-0,287	-0,070
Escurecimento	-0,170	0,182
Autovalor	11,41	8,45
Variância acumulada (%)	49,62	86,35

Valores em negrito representam autovetores com correlação superior a ± 0.6 para o componente em questão, determinado de acordo com Wairegi e van Asten (2011).

O CP1 explica 49,6% da variância total do conjunto de dados originais. As variáveis que participam do CP1 são a firmeza, atividade antioxidante por DPPH*, cor, presença de danos e translucidez, com autovetores negativos, além de ácido ascórbico (AA), polifenóis extraíveis totais (PET), odor característico, sabor característico, brilho, aceitação geral e intenção de compra, com autovetores positivos. Assim, o CP1 pode ser considerado uma variável que descreve simultaneamente as mudanças nos compostos bioativos (AA e PET) e

atividade antioxidante, bem como nas principais características sensoriais, incluindo aceitação geral e intenção de compra das infrutescências.

No eixo do CP2 observar-se a formação de dois grupos (Figura 11). O Grupo 1, formado pelos tratamentos G+F e N+G+F com scores negativos, e o Grupo 3, composto pelo recobrimento N+F que apresenta score positivo e elevado no CP1. Neste sentido, os recobrimentos G+F e N+G+F (Grupo 1) resultam em elevada firmeza (F), menor atividade antioxidante por DPPH•, elevados escores de cor, elevada presença de danos (PD) e maior translucidez (Trans) nas infrutescências, principalmente quando comparados com N+F (Grupo 3), que apresentou maior teor de ácido ascórbico (AA) e polifenóis extraíveis totais (PET), elevados escores de odor característico (OC), sabor característico (SC), brilho, aceitação geral (AG) e intenção de compra (IC) nas infrutescências.

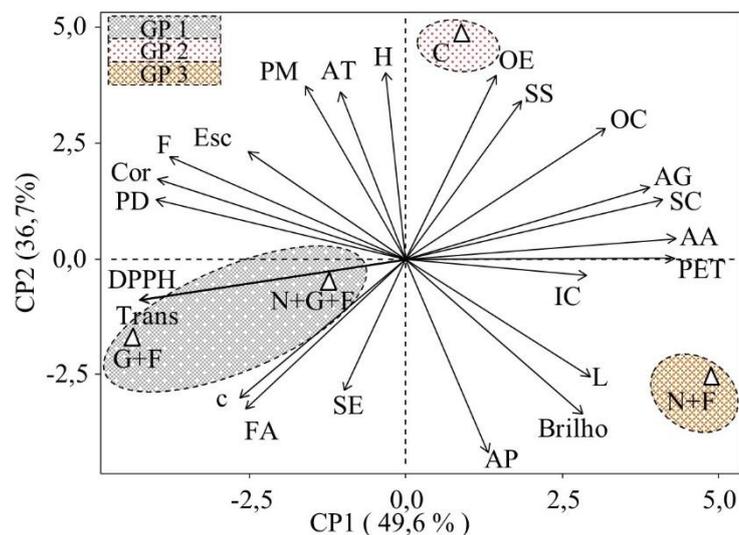


Figura 11. Biplot com base nos valores das variáveis e pontuação para os tratamentos dos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) originados a partir das variáveis físicas, físico-químicas, atividade antioxidante e sensorial de infrutescências do abacaxizeiro ‘Pérola’ recobertas com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,75% mais Fécula de mandioca a 2,5% (NADES+F) com a associação de glicerol 0,75% mais fécula de mandioca 2,5% (G+F) com a associação de solvente natural eutéticos profundo 0,375% mais Glicerol 0,375% mais Fécula a 2,5 % (F+G+NADES) e frutos sem recobrimento controle (C) durante 19 dias de armazenamento sob condições ambientes (24 ± 3 °C e $74\pm 3\%$ U.R.).

O CP 2 explica 36,7% da variância total e as variáveis com participação neste componente foram C, H°, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), flavonoides amarelos (FA), perda de massa (PM), odor característico (OC), odor estranho (OE), sabor estranho (SE), brilho e aparência (AP). O tratamento controle (Grupo 2) foi o único a apresentar score

elevado positivo no CP2, indicando elevados teores de sólidos solúveis, acidez titulável, perda de massa e odor estranho nas infrutescências quando comparado aos demais grupos, separando claramente os abacaxis deste recobrimento dos demais. Além disso, o tratamento controle resultou nos menores valores de C, menor teor de flavonoides amarelos e menores escores para brilho e aparência.

4 CONCLUSÕES

1. O recobrimento NADES+F proporcionou menor perda de massa e manutenção dos teores de sólidos solúveis em abacaxi ‘Pérola’ quando comparados com frutos do controle e demais recobrimentos;
2. Os recobrimentos biodegradáveis proporcionaram a manutenção de teores de ácido ascórbico durante o armazenamento;
3. Abacaxi ‘Pérola’ recobertos com (NADES+F) apresentaram acréscimo nos teores de fenólicos extraíveis totais (PET);
4. Abacaxis recobertos com NADES+G+F apresentaram uma maior atividade antioxidante, seguidos dos recobertos com (NADES+F);
5. A utilização de recobrimentos com NADES não afetou as características de odor e sabor;
6. O escurecimento e a translucidez da polpa de abacaxi ‘Pérola’ foram inibidos mediante o recobrimento com (NADES+F);
7. O uso de recobrimento é necessário para a manutenção da qualidade de abacaxi ‘Pérola’ durante o armazenamento ao ambiente;
8. Recobrimentos com NADES+F manteve os maiores índices de intenção de compra e mostraram-se superiores aos abacaxis do controle quanto a aparência e aceitação geral.

5 REFERÊNCIAS

ABBOTT, A.P.; BOOTHBY, D.; CAPPER, G.; DAVIES, D.L.; RASHEED, R. K. Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 29, p. 9142-9147, 2004.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis of the association of Official Analytical Chemistry, 2005. Washington, WA, 17 th edn.

AZERÊDO, L.P.M.; SILVA, S.D.M.; DANTAS, R.; PEREIRA, W. Qualidade de manga ‘tommy atkins’ da produção integrada recoberta com fécula de mandioca associada a óleos essenciais e quitosana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 1, p. 141-150, 2016.

BAMIDELE, O.P.; FASOGBON, M.B. Chemical and antioxidant properties of snake tomato (*Trichosanthes cucumerina*) juice and Pineapple (*Ananas comosus*) juice blends and their changes during storage. **Food Chemistry**, v. 220, p. 184–189, 2017.

BASIAK, E.; LINKE, M.; DEBEAUFORT, F.; LENART, A.; GEYER, M. Dynamic behaviour of starch-based coatings on fruit surfaces. **Postharvest Biology and Technology**, v. 147, p. 166-173, 2019.

CHAKRABORTY, S.; RAO, P.S.; & MISHRA, H.N. Effect of combined high pressure–temperature treatments on color and nutritional quality attributes of pineapple (*Ananas comosus* L.) puree. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 28, p. 10–21, 2015.

CRUZ-BENÍTEZ, M.M.; GÓMEZ-ALDAPA, C.A.; CASTRO-ROSAS, J.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, E.; GÓMEZ-HERNÁNDEZ, E.; FONSECA-FLORIDO, H. A. Effect of amylose content and chemical modification of cassava starch on the microencapsulation of *Lactobacillus pentosus*. **LWT**, v. 105, p. 110-117, 2019.

DANTAS, A.L.; SILVA, S.M.; DANTAS, R.L.; PEREIRA, W.E.; LIMA, R.P.; MENDONÇA, R.M.N., SANTOS, D. Influence of combined sources of nitrogen fertilization on quality of cv. Vitória pineapple. **African Journal of Agricultural Research**. v. 10, p. 3814 3824, 2015.

DECAEN, P.; ROLLAND-SABATÉ, A.; GUILOIS, S.; JURY, V.; ALLANIC, N.; COLOMINES, G.; Lourdin, D.; LEROY, E. Choline chloride vs choline ionic liquids for starch thermoplasticization. **Carbohydrate polymers**, v. 177, p. 424-432, 2017.

DIFONZO, G.; VOLLMER, K.; CAPONIO, F.; PASQUALONE, A.; CARLE, R.; STEINGASS, C.B. Characterisation and classification of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) juice from pulp and peel. **Food Control**, v. 96, p. 260-270, 2019.

ESPINO, M.; LOS ÁNGELES FERNÁNDEZ, M.; GOMEZ, F.J.; SILVA, M.F. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 126-136, 2016.

FERREIRA, E.A.; SIQUEIRA, H.E.; BOAS, E.V.V.; HERMES, V.S.; RIOS, A.D.O. Bioactive compounds and antioxidant activity of pineapple fruit of different cultivars. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 3, 2016.

FINNEGAN, Elizabeth; O'BEIRNE, David. Characterising and tracking deterioration patterns of fresh-cut fruit using principal component analysis—Part I. **Postharvest Biology and Technology**, v. 100, p. 73-80, 2015.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. **Anthocyanins as food colors**, v. 181, p. 207, 1982.

GUIMARÃES, G.H.C.; DANTAS, R.L.; SOUSA, A.S.B.; SOARES, L.G.; de SÁ MELO, R.; da Silva, R.S.; Lima, R.P.; Mendonça, R.M.N.; Beaudry, R.M.; Melo SILVA, S. Impact of cassava starch-alginate based coatings added with ascorbic acid and elicitor on quality and sensory attributes during pineapple storage. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 9, p. 664-673, 2017.

GUTIÉRREZ, T.J. Active and Intelligent Films Made from Starchy Sources/Blackberry Pulp. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 6, 2017.

International tropical fruits network: Pineapple common varieties, ITFNet, 2016. Disponível em: <http://www.itfnet.org/v1/2016/05/pineapple-common-varieties/>, acesso em fevereiro 2019.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. 2008. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: IAL, 1 ed. digital. 1020p.

JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis. I. Artificial data. **Journal of the Royal Statistical Society. Series C: Applied statistics**. v. 21, n. 2, p. 160-173, 1972

JIMÉNEZ, Alberto et al. Edible and biodegradable starch films: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2058-2076, 2012.

JOVANOVIĆ, M.; MILUTINOVIĆ, M.; KOSTIĆ, M.; MILADINOVIĆ, B.; KITIĆ, N.; BRANKOVIĆ, S.; KITIĆ, D. Antioxidant capacity of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) extracts and juice. **Lekovite sirovine**, n. 38, p. 27-30, 2018.

JUNEIDI, I.; HAYYAN, M.; ALI, O.M. Toxicity profile of choline chloride-based deep eutectic solvents for fungi and *Cyprinus carpio* fish. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 8, p. 7648-7659, 2016.

KOUR, H.; TOWSEEF WANI, N.A.; MALIK, A.; KAUL, R.; CHAUHAN, H.; GUPTA, P.; BHAT, A. Advances in food packaging-a review. Stewart **Postharvest Review**, v. 9, n. 4, p. 1-7, 2013.

LAPEÑA, D.; LOMBA, L.; ARTAL, M.; LAFUENTE, C.; GINER, B. The NADES glyceline as a potential Green Solvent: A comprehensive study of its thermophysical properties and effect of water inclusion. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 128, p. 164-172, 2019.

LÉCHAUDEL, M.; DARNAUDERY, M.; JOËT, T.; FOURNIER, P.; JOAS, J. Genotypic and environmental effects on the level of ascorbic acid, phenolic compounds and related gene expression during pineapple fruit development and ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 130, p. 127-138, 2018.

LI, D.; LI, L.; XIAO, G.; LIMWACHIRANON, J.; XU, Y.; LU, H.; YANG, D.; LUO, Z. Effects of elevated CO₂ on energy metabolism and γ -aminobutyric acid shunt pathway in postharvest strawberry fruit. **Food chemistry**, v. 265, p. 281-289, 2018.

LI, T.; SHEN, P.; LIU, W.; LIU, C.; LIANG, R.; YAN, N.; CHEN, J. Major polyphenolics in pineapple peels and their antioxidant interactions. **International journal of food properties**, v. 17, n. 8, p. 1805-1817, 2014.

LI, X.; ZHU, X.; WANG, H.; LIN, X.; LIN, H.; CHEN, W. Postharvest application of wax controls pineapple fruit ripening and improves fruit quality. **Postharvest Biology and Technology**, v. 136, p. 99-110, 2018.

LIMA, A.B.; SILVA S.M.; ROCHA, A.; NASCIMENTO, L.C.; RAMALHO, F.S. Conservação pós-colheita de manga "Tommy Atkins" orgânica sob recobrimentos bio-orgânicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 3, p. 704-710, 2012.

LIU, Chuan-He; LIU, Yan. Fruit quality and differentially expressed genes of winter-harvested pineapple in response to elevated temperature over a short postharvest period. **Postharvest biology and technology**, v. 130, p. 21-27, 2017.

LIU, W.; ZHANG, K.; CHEN, J.; YU, J. Ascorbic acid and choline chloride: A new natural deep eutectic solvent for extracting tert-butylhydroquinone antioxidant. **Journal of Molecular Liquids**, v. 260, p. 173-179, 2018.

MDITSHWA, A.; MAGWAZA, L.S.; TESFAY, S.Z.; OPARA, U.L. Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: a review. **Scientia Horticulturae**, v. 218, p. 95-104, 2017.

MEILGAARD, M.C.; CARR, B.T.; CIVILLE, G.V. Sensory Evaluation Techniques (4th ed.). CRC Press: Boca Raton., 2007.

NAKAMURA, N.; SUDHAKAR RAO, D.V.; SHIINA, T.; NAWA, Y. Effects of temperature and gas composition on respiratory behavior of tree-ripe 'Irwin' mango. **Acta Horticulturae**, v. 600, p 425-429, 2003.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M.F.; CARVALHO, A.P.; DOMINGUES, V.F.; GOMES, A. M.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 172, p. 462-468, 2015.

RODRÍGUEZ, Ó.; GOMES, W.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F.A. Effect of acoustically assisted treatments on vitamins, antioxidant activity, organic acids and drying kinetics of pineapple. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 35, p. 92-102, 2017.

ROSTAMI, A.M.; KIANI, F.; SARA EI, A.G.H.; KOOHYAR, F.; OMRAN, M.M. Measurement of thermophysical properties of binary system of (water + ascorbic acid) and ternary systems of (water + ascorbic acid + glycerol) and (water + ascorbic acid + D-sorbitol) at T = 293.15 K to 323.15 K and atmospheric pressure. **Journal of Molecular Liquids**, v. 281, p. 471-479, 2019.

SARI, L.K.; SETHA, S.; NARADISORN, M. Effect of UV-C irradiation on postharvest quality of 'Phulae' pineapple. **Scientia horticulturae**, v. 213, p. 314-320, 2016.

SILVA, O.A.; PELLÁ, M.G.; PELLÁ, M.G.; CAETANO, J.; SIMÕES, M.R.; BITTENCOURT, P. R.; DRAGUNSKI, D.C. Synthesis and characterization of a low solubility edible film based on native cassava starch, **International journal of biological macromolecules**, v. 128, n. 1, p. 290-296, 2019.

SOUZA, A.C.; BENZE, R.F.E.S.; FERRÃO, E.S.; DITCHFIELD, C.; COELHO, A.C.V.; TADINI, C.C. Postharvest physico-chemical and mechanical changes in 'Jambu Air' (*Syzygium aqueum* Alston) fruits. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 1, p. 32, 2011.

SPOTTI, M.L.; CECCHINI, J.P.; SPOTTI, M.J.; CARRARA, C.R. Brea Gum (*from Cercidium praecox*) as a structural support for emulsion-based edible films. **LWT - Food Science and Technology**. v 68, p 127-134, 2016.

TEHAVUTHIPORN, C.; BOONYARITTHONGCHAI, P.; SUPABVANICH, S. Physicochemical changes of 'Phulae' pineapple fruit treated with short-term anoxia during ambient storage. **Food chemistry**, v. 228, p. 388-393, 2017.

TEHRANI, M.; SHARIF HOSSAIN, A.B. M.; NASRULHAQ-BOYCE, A. Postharvest physico-chemical and mechanical changes in 'Jambu Air' (*Syzygium aqueum* Alston) fruits. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 1, p. 32, 2011.

TOME, L.I.; BAIÃO, V.; da SILVA, W.; BRETT, C. M. Deep eutectic solvents for the production and application of new materials. **Applied Materials Today**, v. 10, p. 30-50, 2018.

TREVIÑO-GARZA, M.Z.; GARCÍA, S.; HEREDIA, N.; ALANÍS-GUZMÁN, M.G.; ARÉVALO-NIÑO, K. Layer-by-layer edible coatings based on mucilages, pullulan and chitosan and its effect on quality and preservation of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). **Postharvest Biology and Technology**. v. 128, p.63–75, 2017.

UZA, A.C.; BENZE, R.F.E.S.; FERRÃO, E.S.; DITCHFIELD, C.; COELHO, A.C.V.; TADINI, C.C. Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT-Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 110-117, 2012.

VIANA, E.D.S.; REIS, R.C.; JESUS, J.L.D.; JUNGHANS, D.T.; SOUZA, F.V.D. Physico-chemical characterization of new hybrids pineapple resistant to fusariosis. **Ciência Rural**, v. 43, n. 7, p. 1155-1161, 2013.

WAIREGI, L., & VAN ASTEN, P. Norms for multivariate diagnosis of nutrient imbalance in the East African highland bananas (*Musa* spp. AAA). **Journal of plant nutrition**, v. 34, n. 10, p. 1453-1472, 2011.

YEOH, W.K.; ALI, A. Ultrasound treatment on phenolic metabolism and antioxidant capacity of fresh-cut pineapple during cold storage. **Food chemistry**, v. 216, p. 247-253, 2017.

ZHANG, Q.; VIGIER, K.D.O.; ROYER, S.; JÉRÔME, F. Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 21, p. 7108-7146, 2012.

ZHANG, X.; XIAO, G.; WANG, Y.; ZHAO, Y.; SU, H.; TAN, T. Preparation of chitosan-TiO₂ composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 169, p. 101-107, 2017