**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Caracterização e conservação pós-colheita de cambuci, fruto nativo da
Mata Atlântica**

Tatiane de Oliveira Tokairin

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2017**

Tatiane de Oliveira Tokairin
Engenheira Agrônoma

Caracterização e conservação pós-colheita de cambuci, fruto nativo da Mata Atlântica

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **ANGELO PEDRO JACOMINO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Tokairin, Tatiane de Oliveira

Caracterização e conservação pós-colheita de cambuci, fruto nativo da Mata Atlântica / Tatiane de Oliveira Tokairin. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

133 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum 2. Compostos voláteis 3. Climatérico 4. Armazenamento refrigerado I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Harto Tokairin (*in memoriam*) e Raquel de Oliveira Tokairin para honrar todo amor, renúncia, trabalho e a saudade.

AGRADECIMENTOS

À Deus, criador de todas as coisas e merecedor de toda honra.

À minha família, por nunca me deixarem faltar o amor, a fé e a esperança. À minha querida mãe pelo cuidado e orações e ao meu pai (*in memoriam*), pelo incentivo e exemplo, que ainda internado comemorou orgulhoso a minha aprovação no doutorado.

Ao meu marido, pelo amor, apoio, exemplo e incentivo. Por acreditar no meu trabalho e elogiá-lo todos os dias para que eu não desistisse.

À Universidade de São Paulo, à Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’ e ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de realização do doutorado.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino, pela orientação, ensinamentos, paciência e principalmente pela confiança. A oportunidade de lecionar, palestrar, orientar, planejar, solucionar problemas, fizeram de mim uma melhor pessoa e profissional.

Ao Prof. Dr. Eduardo Purgatto, por disponibilizar seu laboratório para análises de compostos voláteis, por seus ensinamentos, exemplo de profissionalismo e dedicação.

Ao Prof. Dr. Severino Matias de Alencar, por disponibilizar seu laboratório para realização de análise da atividade antioxidante. Por sua contribuição no planejamento da pesquisa, por seu comprometimento e atenção.

À Prof^{ra}. Dra. Beatriz Rosana Cordenunsi, por disponibilizar seu laboratório para análises bioquímicas, por sua atenção e direcionamentos durante a qualificação que contribuíram para a execução da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Hilton Thadeu Zarate do Couto por auxiliar no planejamento experimental e análises estatísticas na fase observacional do trabalho.

Ao prof. Ricardo Kluge por disponibilizar seu laboratório para o desenvolvimento de diversas análises bioquímicas e pelas contribuições dadas na banca de qualificação.

Ao prof. Francisco Mourão por disponibilizar seu laboratório para o preparo e a armazenamento de amostras e a Liliane Libório por sua atenção e paciência.

Aos produtores Sr. Paulo Nakanishi e sua família, ao Sr. Benedito Souza e Sabrina do Empório Cambuci, ao Sr. Hugo Daibs e ao Sr. Reginaldo pelo fornecimento dos frutos, pela acolhida, confiança e dedicação. Os verdadeiros inspiradores desta pesquisa.

Ao Ivan Suarez e ao Jaime Anisio do Instituto Florestal - São Paulo, pelo auxílio com veículo e hospedagens nas primeiras viagens para área rural, por serem facilitadores no relacionamento entre a universidade e os pequenos produtores.

Ao Instituto AUA, ao Gabriel Menezes pela oportunidade de divulgação da pesquisa e por contribuir com relacionamento entre os produtores rurais e demais pesquisadores.

À equipe do Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos da USP em São Paulo. Em especial a Vanessa Bonato, Isabel Massaretto, Elias e Janayra que foram imprescindíveis para realização das análises de compostos voláteis.

À equipe do Laboratório de Bioquímica de Alimentos do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, ESALQ/USP, em especial à Adna Prado Massarioli pela receptividade e auxílio nas análises de compostos antioxidantes.

Aos amigos do Laboratório de Pós-colheita de Produtos Hortícolas, pelos bons momentos de convivência e pelo auxílio nos trabalhos. Em especial ao Marcos Trevisan que sempre esteve pronto para ajudar, por sua atenção e paciência.

Às pós-doutorandas Ana Carolina Miguel e Poliana Spricigo pelo empenho diário com a pesquisa, ensinamentos, conselhos, paciência e correções.

Às estagiárias Isabela Taver (Broquen) e Daiane Uchôa que desenvolveram um trabalho excelente, ligado a esta tese. A oportunidade de ensiná-las fortaleceu minha vocação.

Ao prof. Marcel Belatto Spósito e Ricardo Feliciano pela amizade e ajuda na avaliação das doenças pós-colheita.

Ao Horst Bremer, Aline Silva, Antônio Pádua, Thaís Pádua e William (Cotip), pelo companheirismo, paciência e apoio na etapa de campo. Por serem solícitos em disponibilizar seus automóveis, dirigir e ajudar na colheita.

À Cíntia Braçaroto por auxiliar no meu desenvolvimento pessoal e na redescoberta dos meus valores, talentos e sonhos.

Às Irmãs do Cenáculo e “meninas da casa” pelo carinho, orações, amizade, cuidado e convivência feliz em todos estes anos em Piracicaba.

Às amigas Natália Arruda, Mariana Pontin, Andrea Ribeiro, Camila Kraide, Bárbara Antônia, Ir. Maria Imaculada da Cruz, pela amizade incondicional.

Aos muitos amigos do Ministério Universidade Renovadas (MUR), GOUs de Piracicaba e de São Paulo, RCC Piracicaba e Comunidade Corpus Christi. Por serem luz na minha vida universitária, pelas orações, conselhos e pela vida fraterna.

EPÍGRAFE

*“Comece fazendo o que é necessário,
Depois o que é possível,
E de repente você estará fazendo o impossível. ”*

São Francisco de Assis

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
Referências.....	13
2. OBJETIVO	15
2.1. Objetivos Específicos	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1. Cambuci [<i>Campomanesia phaea</i> (O. Berg.) Landrum]	17
3.1.1. Origem.....	17
3.1.2. Botânica e fenologia	18
3.1.3. Composição físico-química	20
3.1.4. Importância e utilização	22
3.2. Fisiologia do Amadurecimento de Frutos	23
3.2.1. Ponto de colheita	23
3.2.2. Respiração e padrão respiratório	24
3.2.3. Etileno.....	25
3.2.4. Compostos voláteis.....	27
3.3. Armazenamento Refrigerado.....	29
Referências.....	30
4. CARACTERIZAÇÃO DE CAMBUCI.....	39
Resumo.....	39
Abstract.....	39
4.1. Introdução.....	39
4.2. Material e Métodos	41
4.2.1. Fase observacional.....	41
4.2.2. Caracterização de cambucis dos municípios de Natividade da Serra e Salesópolis – SP	42
4.2.3. Metodologias de análise	43
4.2.4. Análise dos dados	47
4.3. Resultados e Discussão.....	47

4.3.1. Fase observacional	47
4.3.2. Caracterização de cambucis dos municípios de Natividade da Serra e Salesópolis – SP	51
Referências.....	68
5. PONTO DE COLHEITA E PADRÃO RESPIRATÓRIO DE CAMBUCI	75
Resumo.....	75
Abstract.....	75
5.1. Introdução	76
5.2. Material e Métodos	77
5.2.1. Ponto de colheita de cambucis	77
5.2.2. Padrão respiratório do cambuci.....	79
5.2.3. Metodologias de análise.....	80
5.2.4. Análise dos dados.....	83
5.3. Resultados de Discussão	83
5.3.1. Ponto de colheita de cambuci.....	83
5.3.2. Padrão respiratório do cambuci.....	105
5.4. Conclusão.....	111
Referências.....	112
6. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO ARMAZENAMENTO DE CAMBUCIS	117
Resumo.....	117
Abstract.....	117
6.1. Introdução	117
6.2. Material e Métodos	119
6.2.1. Metodologias de análise.....	120
6.3. Resultados de Discussão	121
6.4. Conclusão.....	130
Referências.....	130
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	133

RESUMO

Caracterização e conservação pós-colheita de cambuci, fruto nativo da Mata Atlântica

Diversas mirtáceas são nativas dos biomas brasileiros, sendo que a Mata Atlântica é o local onde muitas das espécies desta família ocorrem e têm grande importância pela qualidade de seus frutos. Dentre as espécies do gênero, o cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] é apontado com grande potencial funcional e sensorial que pode ser explorado comercialmente, devido às suas características nutricionais e funcionais. Entretanto, a carência de informações técnicas sobre a espécie, aliada à falta de tecnologias adequadas à conservação *in natura* e processamento dos frutos, colocam em risco a exploração do seu potencial comercial e de consumo. Em decorrência desse panorama, os objetivos do presente trabalho foram: (1) avaliar a diversidade entre cambucizeiros originados de semente, quanto aos seus aspectos físicos e químicos, compostos bioativos e compostos voláteis, (2) determinar o ponto adequado de colheita e comportamento respiratório dos frutos e por fim, (3) investigar a influência da temperatura de armazenamento na qualidade e na fisiologia pós-colheita de cambuci, com o intuito de fornecer subsídios técnicos/científicos à exploração comercial desta frutífera. Os resultados da caracterização físico-química dos frutos e dos teores de voláteis revelaram diferenças entre as árvores matrizes, os locais de colheita e entre as safras dos anos de 2014 e 2015. O estágio de maturação 2, caracterizado por frutos maduros colhidos na planta, com coloração verde-amarelada e região equatorial levemente arredondada, foi definido como o ponto de colheita ideal para cambuci. Os frutos do E2 possuíam qualidade igual ou superior aos frutos dos outros estádios avaliados, tendo menor adstringência, conteúdo superior de ácido ascórbico e vida-útil pós-colheita acrescida em pelo menos 2 dias, por terem menor perda por podridões, maior firmeza da polpa e menor perda de massa frutos. Os frutos cambuci apresentaram padrão respiratório não-climatérico. Apresentaram também alteração da qualidade sensorial, ao longo dos dias após a colheita, entre os estádios de maturação, constatado pelo perfil dos compostos voláteis, tanto pela abundância de metabólitos, como pela nota aromática. Frutos mais verdes apresentam aromas herbáceo, etéreo ou pungente e à medida que amadureceram passaram a apresentar aromas frutados e canforados. O armazenamento dos frutos a baixa temperatura comprovou ser uma alternativa viável para a pós-colheita dos frutos de cambuci, contribuindo para a sua conservação, prolongando sua vida útil. Os resultados obtidos abrem perspectivas para o desenvolvimento da fruticultura do cambuci, haja vista a variabilidade genética entre os genótipos produtivos aqui demonstrada. Dessa forma, há subsídios para a implementação de programas de melhoramento da espécie com vistas ao aumento na produtividade dos plantios, atendendo à sua cadeia produtiva. Ademais, os resultados dão suporte para a definição de procedimentos de pós-colheita do cambuci, fundamentados em informações técnicas que garantem metodologia específica para a colheita e armazenagem dos frutos de cambuci. Portanto, os resultados descritos representam um avanço frente à definição de práticas de colheita e armazenagem dos frutos, garantindo assim a expansão da fruticultura da espécie.

Palavras-chave: *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum; Mirtáceas; Ponto de colheita; Climatérico; Armazenamento refrigerado; Compostos voláteis

ABSTRACT

Postharvest characterization and conservation of Cambuci, native fruit from the Brazilian Atlantic Forest

There are several Myrtaceae native to the Brazilian biomes, being the Atlantic Forest the place where many of them occur, having great importance for the quality of its fruits. Among the species of the genus, cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] has great functional and sensorial potential, being able to be exploited commercially due to its nutritional and phytotherapeutic characteristics. However, the lack of technical information about the species, coupled with the lack of appropriate technologies for *in natura* conservation and fruit processing, delay the exploitation of its commercial and consumption potential. Due to this background, the objectives of this study were: (1) assess the diversity among cambucizeiros originated by seeds and their physical and chemical quality, bioactive compounds and volatile compounds, (2) determine the appropriate maturity stage for harvest and respiration rate, (3) to investigate the influence of storage temperature on cambuci quality and postharvest physiology, with the purpose of providing technical/scientific subsidies to the commercial exploitation of this fruit. The results of the physicochemical characterization of the fruits and the volatile contents revealed differences between the matrix trees, harvesting sites and between the harvests of 2014 and 2015. The maturation stage 2, characterized by ripe fruits harvested in the plant, with a yellowish-green coloration and slightly rounded equatorial region, was defined as the ideal picking for cambuci. The fruits had an equal or higher quality than the fruits of the other maturity stages, with lower astringency, higher ascorbic acid content and postharvest life at least 2 days larger. These results were obtained because in this maturity stages, fruits had less rot loss, greater pulp firmness and fresh weight loss. The cambuci fruits showed a non-climacteric respiratory pattern. They also showed changes in the sensorial quality, along the days after harvesting and between the stages of maturation, verified by the volatile compounds, the abundance of metabolites and aromatic notes. Greener fruits have herbaceous, ethereal or pungent aromas, and as they mature, they have fruity and camphorated aromas. The fruits storage at low temperature proved to be a viable alternative for the postharvest of cambucis, contributing to its conservation, prolonging its shelf-life, without compromising its quality. The results obtained open perspectives for the development of cambuci produce, given the genetic variability among the productive genotypes demonstrated here. Thus, there are subsidies for the implementation of breeding programs of the species for increasing the productivity, considering their productive chain. In addition, the results support the definition of postharvest procedures for cambuci, foundations in technical information that guarantee specific methodology for the harvest and storage of cambuci fruits. Therefore, the results described here represent an advance in harvesting practices and storage of the cambuci fruits, guaranteeing the expansion of production of the species.

Keywords: *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum; Myrtaceae; Harvest point; Climacteric; Refrigerated storage; Volatile compounds.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil detém a maior biodiversidade do mundo, sendo considerado o país da megadiversidade, com 15 a 20 % das espécies do planeta. Contém em seu território a maior riqueza de espécies da flora, além dos maiores remanescentes de ecossistemas tropicais (MYERS et al., 2000 apud CORADIN et al., 2011). Esta grande variedade de espécies dispõe de frutas com potencialidades nutricionais, funcionais e agroindustriais a serem exploradas que, uma vez conhecidas, podem lançar o país a novos mercados com produtos diferenciados.

A Mata Atlântica se destaca por ser um dos biomas mais ricos e, ao mesmo tempo, mais ameaçados do planeta. O que representou 15 % do território nacional, devido à ocupação por áreas de pastagens e monoculturas, foi devastado e atualmente estima-se apenas cerca de 9 % de remanescentes florestais dos 1.315.460 ha que existiam originalmente. Mesmo reduzida e fragmentada, a Mata Atlântica abriga um patrimônio genético de espécies vegetais que permite garantir a sustentabilidade dos sistemas agrícolas e naturais (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2014). Espécies arbóreas nativas, incluindo as frutíferas, representam uma opção para áreas desmatadas, podendo ser exploradas racionalmente mediante a fiscalização. Além disso, correspondem a uma alternativa de melhor utilização da propriedade rural e de renda ao agricultor, possibilitando o enriquecimento da dieta alimentar da população, seja na forma *in natura* ou industrializada.

Dentre as espécies nativas brasileiras, as mirtáceas se destacam, com numerosas espécies frutíferas dos gêneros *Eugenia* (pitanga, uvaia, cereja-nacional, cambucá e grumixama), *Psidium* (goiaba e araçá), *Myrciaria* (jabuticaba) e *Campomanesia*, gênero do cambuci (KAWASAKI, LANDRUM, 1997; MARCHIORI; SOBRAL, 1997; ROMAGNOLO, 2009).

O cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] é um fruto nativo, encontrado espontaneamente na Vertente da Serra do Mar Paulista, citado com um exemplo importante do impacto do desmatamento da Mata Atlântica, que em decorrência do processo de urbanização e implantação de monoculturas, passou a ser considerado uma espécie em risco de extinção. Somente nos últimos dez anos seu processo de extinção gradativamente vem sendo revertido, graças às várias ações conjuntas, interligadas e complementares envolvendo o seu resgate histórico-cultural, potencial socioeconômico e sustentável (KAWASAKI; LANDRUM, 1997).

Os cambucizeiros são plantas de porte médio, com uma floração branca vistosa e seus frutos são atraentes e de formato distinto, lembrando a forma de um “disco voador”; sua casca

é fina e de coloração verde, sua polpa é carnosa, suculenta, com forte acidez e adstringência e possui um aroma intenso e adocicado. Sob o ponto de vista nutricional é um fruto rico em vitaminas e minerais, sendo também, fonte de compostos fenólicos.

Pertencente à família Myrtaceae, esta espécie se mostra promissora pela grande quantidade de elementos voláteis, compostos bioativos e potencialidade de uso industrial. Atualmente é utilizado como aromatizantes, em cosméticos e no preparo de sucos, geleias e doces, mas seu consumo *in natura* é limitado devido à forte acidez e adstringência que reduz a sua aceitabilidade (MATHIAS; ANDRADE, 2011).

O consumo limitado do cambuci, também está atrelado à falta de conhecimento da cultura, e devido a isso, estudos quanto à produção e conservação desses frutos ainda são necessários. A falta de conhecimento sobre a fisiologia e comportamento pós-colheita deste fruto resulta em práticas que podem prejudicar a sua qualidade final. Um exemplo disto é a colheita usualmente realizada após a queda natural dos frutos, no solo. De forma geral, toda a cadeia produtiva do cambuci ainda requer estudo e desenvolvimento, desde a seleção de variedades até a pós-colheita, até porque a qualidade do fruto é dependente de todas etapas de pré e pós-colheita.

Como a produção de frutas nativas no país ainda é pouco explorada, o conhecimento de variedades de cambuci é inexistente. Trabalhos de melhoramento vegetal estão sendo iniciados e os poucos plantios comerciais existentes são de plantas originárias de sementes, e portanto, possuem alta variabilidade genética. Por falta de seleção e melhoramento, a produção se concentra em período reduzido, gerando grande oferta do produto no mercado numa única época, o que torna os preços baixos.

Diante dos aspectos apresentados sobre o desenvolvimento da cultura, evidencia-se a necessidade de trabalhar com técnicas de pós-colheita para um aproveitamento adequado do cambuci. Promover a solução de gargalos na produção e comercialização dos frutos resulta em melhorias ao consumidor, ao mercado de frutas e aos produtores que compõem a base desta cadeia. Estudos que visem o conhecimento das características físicas, químicas e bioativas do cambuci podem contribuir para a seleção de variedades, determinação do ponto adequado de colheita, adequação de técnicas de armazenamento e conservação compatível com a situação da produção e do mercado.

Visando a conservação da qualidade e maior vida-útil de cambucis, este trabalho teve como objetivos: caracterizar frutos provenientes de duas regiões produtoras, determinar o ponto adequado de colheita e comportamento respiratório, assim como estudar o efeito do armazenamento refrigerado na qualidade dos frutos.

Referências

- CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul** – Brasília: MMA, 2011. 934p.
- FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA & INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica**, períodos 2011 – 2012. Relatório técnico. Disponível em < <http://mapas.sosma.org.br/>> Acesso em 05/10/2016.
- KAWASAKI, M.L.; LANDRUM, L.R. A rare and potentially economic fruit of Brazil. Cambuci, *Campomanesia phae* (Myrtaceae). **Ecomic Botany**, Lancaster, v. 51. P. 403-407, 1997.
- MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas: Myrtales**. Santa Maria: Ed. UFSM. 1997. 304p.
- MATHIAS, J.; ANDRADE, G.A. de. **Cambuci: nativa da mata atlântica, a árvore frutífera é também uma planta ornamental, mas está sob risco de extinção**. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC1649492-4529,00.html>>. Acesso em: 10 de jul. 2013.
- ROMAGNOLO, M.B. **A família Myrtaceae na Estação Ecológica do Caiuá**, Diamante do Norte, PR: projeto de pesquisa. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, 2009. 22p.

2. OBJETIVO

Ampliar o conhecimento sobre a pós-colheita de cambucis por meio da caracterização dos frutos e implementação de técnicas que permitam estender a sua vida útil, viabilizando a manutenção da qualidade e maior período de armazenamento *in natura*.

2.1. Objetivos Específicos

- i. Caracterizar frutos de cambucizeiros originados de semente, quanto aos seus aspectos físicos e químicos, compostos bioativos e compostos voláteis.
- ii. Determinar o ponto de colheita e comportamento respiratório dos frutos.
- iii. Avaliar a influência da temperatura de armazenamento na qualidade e na fisiologia pós-colheita de cambuci.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum]

3.1.1. Origem

Originário da Mata Atlântica, bioma ameaçado de extinção que se estende ao longo da costa leste brasileira, a espécie ocorre espontaneamente na região sudeste do Brasil, sendo relatada sua ocorrência nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo, notadamente na Serra do Mar paulista (LORENZI et al., 2006). Nesta região, o clima caracteriza-se como tropical à subtropical úmido, apresentando precipitações médias anuais que variam entre 1500-4000 mm.

A Mata Atlântica foi a segunda maior floresta tropical do continente americano, considerado um dos biomas mais ricos em diversidade biológica. Na época do descobrimento estendia-se ao longo de quase todo o litoral brasileiro, cobrindo aproximadamente 15 % do território nacional, mas devido às degradações ocasionadas pelos processos de colonização, industrialização e urbanização, hoje os fragmentos florestais remanescentes representam apenas 9 % da cobertura original (Figura 3.1) (FUJIHARA et al., 2009; SOUZA, 2009).

Figura 3.1 - Remanescente florestal do Bioma Mata Atlântica, destaque para região leste do estado de São Paulo (FONTE: FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2013)

Nos remanescentes de Mata Atlântica, representados por aproximadamente 1.000 espécies, a família Myrtaceae se destaca por seu grande potencial econômico a ser explorado. Dentre as mirtáceas brasileiras há numerosas espécies frutíferas; os gêneros *Eugenia* (pitanga,

uvaia, cereja-nacional, cambucá e grumixama), *Psidium* (goiaba e araçá) e *Myrciaria* (jabuticaba) são predominantes e agrupam a maior parte das espécies de interesse. No gênero *Campomanesia*, encontra-se o cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum], citado como um fruto de grande potencial econômico para o Brasil, entretanto pouco explorado (LANDRUM; KAWASAKI, 1997; MARCHIORI; SOBRAL, 1997; ROMAGNOLO, 2009).

Atualmente o cambucizeiro pode ser encontrado em quintais e áreas de reserva ambiental, bem como em pequenos pomares comerciais que atendem o insipiente mercado de frutos *in natura* e produtos derivados da fruta. Nesta área, a espécie se desenvolve e produz frutos em solos ácidos, com elevado teor de matéria orgânica, baixa concentração de fósforo, cálcio, magnésio e potássio e elevada concentração de alumínio.

3.1.2. Botânica e fenologia

O cambucizeiro [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] pertence à família Myrtaceae, gênero *Campomanesia*, possuindo os sinônimos *Abbevillea phaea* O. Berg e *Paivaea langsdorfii* O. Berg. (LORENZI et al., 2006). Outros nomes lhe são atribuídos, tais como ubucambuci, cambuhi, camuci, camucim, camoti, cambucy e cambuchi, remetendo ao formato de pote ou vaso indígena, denominado kãmu-si (DONADIO et al., 2002; ANDRADE et al., 2011). O grande potencial desta fruta tem estimulado a formação de associações de produtores, atividades de organizações não governamentais voltadas às questões envolvendo sustentabilidade e a criação de festivais gastronômicos (Rota do Cambuci), além de projetos de pesquisa em instituições públicas.

A planta é semi-decídua, heliófila, seletiva higrófila (DONADIO et al., 2002; LORENZI et al., 2006), copa com formato alongado, atingindo altura superior à 16 metros em habitat natural (Figura 3.2 a). O tronco apresenta coloração cinza-escuro (DONADIO et al., 2002). Ressalta-se que a espécie apresenta grande variabilidade fenotípica que se manifesta, notadamente, nas características morfológicas e químicas dos frutos, que apresentam variações significativas de interesse para melhoramento genético, manejo e uso agroindustrial.

As folhas são glabras, subcoriáceas, pedunculadas, de forma ovalada a obovado-oblongas, verde brilhante na face adaxial e verde claras na face abaxial. Possuem de 7 a 10 cm de comprimento por 3 a 4 cm de largura, apresentando margens retorcidas. A nervação é penínervia e a inserção é oposta dística (DONADIO et al., 2002) (Figura 3.2 d).

As flores são hermafroditas, pentâmeras, com inserção na axila dos ramos, coloração branca, com 5 sépalas e 5 pétalas, com grande quantidade de estames, característica da família

Myrtaceae (PIMENTEL, 1976; KAWASAKI; LANDRUM, 1997; DONADIO et al., 2002) (Figura 3.2 b), com grande quantidade de pólen e antese com duração de dois dias (CORDEIRO, 2015).

O fruto é uma baga lisa com formato romboide, casca fina com consistência membranácea, de coloração verde (DONADIO et al., 2002) (Figura 3.2 e). O número de sementes por fruto varia entre 9-13, sendo que aproximadamente 30 % apresentam-se férteis. As sementes possuem formato orbicular, achatada e coloração branco-pálida (DONADIO et al., 2002) (Figura 3.2 c).

Figura 3.2. a) Cambucizeiro [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum]; b) Flores; c) Sementes em corte transversal do fruto; d) Folha do cambucizeiro; e) Cambuci.

A espécie necessita da transferência de pólen entre indivíduos (sistema reprodutor auto incompatível), tornando imprescindíveis os serviços de polinização, com destaque para abelhas noturnas e crepusculares tais como *Megalopta sodalis*, *Megommation insigne*, *Ptiloglossa latecalcarata* e *Zikanapis seabrai*, além de *Apis mellifera*. Além disso, espécies com sistema reprodutor auto incompatível exigem estratégias adequadas de composição, manejo e tratamentos culturais dos pomares que favoreçam a presença de polinizadores e a transferência de pólen entre indivíduos, tais como o uso de diferentes variedades, manutenção da vegetação de entorno, uso de inseticidas seletivos aos polinizadores e inserção de colméias (CORDEIRO, 2015).

O florescimento do cambucizeiro ocorre ao longo da primavera e início do verão (outubro-janeiro), de forma contínua, atingindo máxima intensidade em novembro-dezembro,

contudo são observados florescimentos extemporâneos, menos intensos, ao longo do ano. A frutificação inicia em fevereiro se estende até junho, apresentando maior intensidade no mês de março (LORENZI, 1992).

Como o florescimento ocorre durante período de até quatro meses, com abertura de poucas flores por dia (CORDEIRO, 2015), uma mesma planta apresenta frutos em diferentes estádios de maturação, mesmo no período de safra, exigindo colheita diária. No pico da safra, alguns produtores realizam a colheita até três vezes ao dia. Os frutos quando maduros mantêm a coloração verde da casca, que se torna menos brilhante e intensa (verde-amarelada), perdem firmeza e desprendem-se da planta naturalmente.

A forma de propagação é por sementes, empregada nos poucos plantios de cambuci do país; os produtores as obtêm de plantas que aparentemente são superiores à maioria da população, em função de suas características agronômicas e qualidade do fruto. Lorenzi (1992) descreve que a viabilidade das sementes de cambuci no armazenamento não ultrapassa 30 dias, mas em estudo posterior sobre germinação e conservação, Maluf & Ereio (2005) observaram que estas sementes mantêm sua germinação em 63,8 % a 86,3 %, por até 240 dias; quando dessecadas (3 % a 5 % UR) e armazenadas em condições controladas de câmara fria e em saco de plástico apresentam comportamento ortodoxo.

Relatos de produtores indicam que cambucizeiros produzem uma média anual de 10 quilos de frutos por planta/ano, cultivadas sem irrigação, em sistema agroflorestal, sendo observados indivíduos com produção de 50 kg de frutos.

3.1.3. Composição físico-química

O cambuci é um fruto que apresenta rendimento de polpa superior a 80 %. A composição centesimal é se caracteriza por teor de umidade ($88,8 \% \pm 0,2$), lipídios ($1,53 \% \pm 0,09$), proteína ($0,44 \% \pm 0,04$), fibras ($4 \% \pm 0,08$) (VALLILO et al. 2005).

A forte acidez do cambuci é um atributo relevante em sua composição. Os valores encontrados na literatura são semelhantes. Vallilo et al. (2005) e Sanches (2013) relataram valores de acidez titulável entre 2,1 e 3,0 % de ácido cítrico e $\text{pH} = 2,91$. O teor de sólidos solúveis descrito por Sanches et.al (2013) é de aproximadamente 10 °Brix.

A grande variação nos teores de ácido ascórbico, compostos fenólicos e atividade antioxidante entre plantas distintas indicam que há extensa variabilidade genética entre os cambucizeiros, abrindo uma perspectiva para programas de melhoramento da espécie voltados para a produção, qualidade e propriedades funcionais dos frutos. O teor médio de ácido

ascórbico nos frutos observados por Bianchini et al. (2016) em estudo com 120 acessos variou de 25,62 mg 100 g⁻¹ a 127,40 mg 100 g⁻¹. Desta forma, o cambuci pode ser considerado uma importante fonte de vitamina C, de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 1998) a recomendação é a ingestão de 60 mg dia⁻¹ para adultos, a fim de complementar a ingestão sugerida. A laranja que é popularmente conhecida como fonte de vitamina C, apresentando aproximadamente 80 mg 100 g⁻¹ (COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

Estudos recentes revelam que o consumo do suco de cambuci pode ajudar a prevenir a incidência de doenças causadas por estresse oxidativo, sendo também uma boa estratégia nutricional (FERRARI, 2014). As propriedades benéficas dos frutos, segundo o mesmo autor, são atribuídas à presença de compostos fenólicos, flavonóides e açúcares, tais como frutose, sacarose, manitol, manose e glicose, além da atividade antioxidante celular e antiproliferativa. Os teores de compostos fenólicos totais em cambuci variam de 330,50 mg 100 g⁻¹ de GAE a 3.526,04 mg 100 g⁻¹ GAE. De acordo com a classificação proposta por Vasco et al. (2008), os níveis observados permitem categorizar o cambuci como tendo alta concentração de fenóis (>500 mg GAE 100 g⁻¹), sendo estes superiores aos relatados por Ferrari et al. (2014) de 367,84 ± 10,79 mg GAE 100 g⁻¹.

Os alimentos funcionais se caracterizam por oferecer benefícios à saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química, podendo desempenhar um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas degenerativas (NEUMANN et al., 2000; TAIPINA et al., 2002). A exemplo disto, os compostos fenólicos do cambuci melhoram a tolerância à glicose, redução da glicemia e insulinemia, protegendo contra níveis elevados de gordura (DONADO-PESTANA et al., 2015).

Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (SOARES, 2002). Assim, compostos fenólicos intervêm como antioxidantes naturais do alimento, e a obtenção ou preparação de alimentos com um alto conteúdo destes compostos supõem uma redução na utilização de aditivos antioxidantes, resultando em alimentos mais saudáveis, que podem ser inclusos dentro da classe dos alimentos funcionais (MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000).

A capacidade antioxidante pode ser expressa usando diferentes parâmetros, incluindo capacidade de eliminação de radicais peroxil (ORAC, TRAP), capacidade de redução de metal

(FRAP; CUPRAC), a capacidade de eliminação de radicais hidroxila (Método desoxirribose), a capacidade de eliminação de radicais orgânicos (ABTS, DPPH) e quantidade de produtos de peroxidação lipídica (TBARS, oxidação do LDL, β -caroteno, co-oxidação) (ALVES; BRITO; RUFINO, 2006; SÁNCHEZ-MORENO 2002). Os métodos mais utilizados são FRAP, ABTS, DPPH e ORAC, recomenda-se o que, pelo menos duas destas metodologias sejam combinadas para proporcionar um resultado confiável, devido à complexidade da composição de cada alimento e pelos antioxidantes não atuarem separadamente, a determinação da capacidade antioxidante individualmente pode ser menos efetiva (PRIOR; CAOS, 1999).

Com relação à atividade antioxidante medida pela capacidade de captura do radical DPPH, os frutos apresentam a média de 65,03 μmol de trolox g^{-1} de polpa (base úmida), com ressalva que a maior atividade antioxidante encontrada é superior ao do mirtilo de 191,8 μmol de trolox g^{-1} de polpa em base úmida (LUTZ et al., 2015). Gonçalves (2008) obteve atividade média de 139 μmol de trolox g^{-1} de polpa (base seca) em frutos da mesma espécie.

O fruto de cambucizeiro apresenta 48 % a mais de taninos condensados que o caqui e 35 % a mais que o caju (SANCHES, 2013). Desta forma, para tornar-se um fruto apto ao consumo *in natura*, este deve passar por um processo de remoção da adstringência ou variedades de cambucis com baixa adstringência devem ser selecionadas através de programas de melhoramento. O processo de polimerização das moléculas de tanino, torna-as insolúveis e consequentemente, incapazes de reagir com as enzimas presentes na saliva. Tal polimerização das moléculas pode ser causada por ligações covalentes com moléculas de acetaldeído ou por interações não covalentes com outros componentes presentes no citosol (MATSUO & ITOO, 1982).

3.1.4. Importância e utilização

A maior parte do cambuci produzido é congelado na forma de polpa ou frutos inteiros. Os principais clientes são os restaurantes de alta gastronomia e lanchonetes da grande São Paulo que utilizam o cambuci no preparo de sucos e de pratos com receitas diversas. Parte da produção é processada de forma artesanal pelos próprios agricultores no preparo de geleias, licores, vinho, cachaça, xarope, conservas, bolachas, farinha, bolos, mousse e sorvetes, dentre outros produtos. A planta pode ser usada para fins ornamentais e na recomposição de áreas degradadas (MARTINS et al., 2002).

O cambuci, por possuir atributos que favorecem a industrialização, tem despertado o interesse dos consumidores e movimentado o setor de frutas nativas. As características que tem

revelado o grande potencial industrial e comercial do cambuci são: grande quantidade de fibras e pectina na polpa, o alto rendimento em polpa, alto teor de sólidos solúveis e alta acidez titulável. Além disto, o óleo essencial encontrado nas folhas dos cambucizeiros é muito valorizado pelas indústrias de cosméticos e de fármacos (ADATI, 2001).

3.2. Fisiologia do Amadurecimento de Frutos

O amadurecimento é um processo geneticamente programado através do qual ocorrem alterações bioquímicas e fisiológicas com consequentes alterações no sabor, cor, aroma e textura do fruto, aumentando sua palatabilidade para o consumo *in natura* ou para o processamento (ALEXANDER; GRIERSON, 2002; CAMPANA, 2007). Nesta fase de desenvolvimento se atinge a maturidade fisiológica, estágio em que os frutos são capazes de continuar seu desenvolvimento mesmo destacados da planta de origem, com qualidade mínima aceitável ao consumidor (REID, 1992).

Os frutos só alcançam a maturidade fisiológica quando unidos a planta, por isto não se deve colhê-los antes que adquiram este estágio. Em contrapartida, para chegar a maturidade de consumo, etapa do desenvolvimento em que fruto encontra-se com os atributos de cor, aroma, textura e sabor desejáveis, é necessário fazer uma distinção entre os frutos climatéricos e não-climatéricos. Resumidamente, frutos climatéricos, após colhidos, continuam seu processo de maturação até alcançar as propriedades sensoriais ótimas para o consumo; e frutos não-climatéricos, não são capazes de atingir as mesmas propriedades uma vez separados da planta (CAMPANA, 2007). Por isto, determinar corretamente o estágio de maturação do fruto é essencial para que a colheita seja efetuada no momento adequado (AZZOLINI et al., 2004). Frutos colhidos prematura ou tardiamente são susceptíveis a desordens fisiológicas e tem uma vida útil menor frutos colhidos em maturidade ótima (KADER, 1999).

3.2.1. Ponto de colheita

O ponto de colheita é o ponto inicial, dentro da cadeia pós-colheita para garantir o potencial de conservação e a qualidade dos frutos (CHITARRA & CHITARRA, 2005). O estágio de maturação de um fruto tem como base os índices de maturação, que compreendem características físicas ou químicas que sofrem alterações ao longo do processo de maturação dos frutos, tais como redução da firmeza da polpa, coloração da casca, formado, acidez titulável

(AT), sólidos solúveis (SS), conteúdo de açúcares, relação SS/AT, rendimento em suco, vitamina C, clorofila e carotenoides totais do suco (COELHO et al., 2010).

O ponto de colheita e o manejo pós-colheita dependem do padrão fisiológico de cada fruto, sendo variável com a espécie e com a cultivar. Outro fator que determina o ponto de colheita é o destino que será dado ao fruto: frutos destinados ao consumo *in natura* devem ser colhidos maduros ou ligeiramente firmes, enquanto que os destinados à industrialização ou armazenamento podem ser colhidos com um grau de maturação menos avançado (LIMA et al., 2003).

A fisiologia e a bioquímica do cambuci é praticamente desconhecida. Acredita-se que o cambuci seja um fruto não climatérico. Produtores realizam a coleta dos frutos após o seu amadurecimento, com a justificativa que o fruto não amadurece se colhido em estágio anterior à abscisão natural. O estudo sobre o ponto de colheita em frutos nativos é recente e vem sendo desenvolvido na medida em que estas espécies se tornam importantes. O camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mcvaugh], fruto nativo da Amazônia, teve seu ponto de colheita determinado a partir do seu índice de maturação definidos pela coloração da casca, sendo o mais apropriado para a colheita, frutos com casca vermelho-esverdeada (PINTO et al., 2013). Camu-camus colhidos nos estádios mais verdes, embora atinjam maior vida útil pós-colheita; apresentaram qualidade inferior (PINTO et al., 2013).

O ponto de colheita do maracujá azedo se assemelha ao do cambuci, geralmente efetuada quando os frutos caem no solo, acarretando perdas significativas e redução no período de conservação e comercialização devido à desidratação do fruto e à contaminação por micro-organismos. O ponto ótimo de colheita de cultivares de maracujá para safra de verão foi determinado quando os frutos apresentam pelo menos 55 % de coloração amarela na casca, enquanto que a colheita antecipada preservou a qualidade dos maracujás e aumentou a vida útil durante o armazenamento (SANTOS et al., 2013).

3.2.2. Respiração e padrão respiratório

A respiração consiste no processo vital para frutas, pois é na respiração que o vegetal recebe a energia necessária para a sua sobrevivência, constituindo um dos principais fatores determinantes do potencial de longevidade das frutas na fase pós-colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A respiração é o processo pelo qual os materiais orgânicos de reserva,

como carboidratos, proteínas e gorduras, são oxidados em moléculas mais simples (CO_2 e O_2) com produção de energia e esqueletos carbônicos (TAIZ; ZEIGER, 2006).

Quanto maior a atividade metabólica de um determinado tecido, mais alta é a sua taxa respiratória, até que atinja a sua maturidade, e então a sua taxa respiratória permanece constante ou diminui vagarosamente à medida que o tecido envelhece e finalmente senesce (TAIZ; ZEIGER, 2006).

Em frutos, o processo de respiração é fundamental para seu amadurecimento, pois várias reações acopladas à respiração são responsáveis pela síntese de inúmeros compostos, como pigmentos, compostos fenólicos e fitohormônios (PURVIS, 1997). No início do amadurecimento de muitas frutas, ocorre o acentuado aumento na respiração, denominado climatério (TAIZ; ZEIGER, 2006).

O padrão da atividade respiratória em frutos pode ser dividido em climatéricos e não climatéricos. O climatérico pode ser definido como um período na ontogenia de certos frutos, durante o qual uma série de mudanças bioquímicas são iniciadas, devido à produção autocatalítica de etileno, associada a respiração aumentada que leva a mudanças do crescimento e, conseqüentemente, ao amadurecimento (SUDHEER; INDIRA, 2007). São caracterizados por apresentarem um pico de produção de etileno, associado ao aumento da produção de CO_2 , que pode preceder, acompanhar ou seguir o incremento respiratório, dependendo do fruto em questão, o que não é observado nos frutos não climatéricos. Após o pico do climatério há uma aceleração do amadurecimento do fruto, levando-o à senescência (RHODES, 1980, TAIZ; ZEIGER, 2006).

O conceito de amadurecimento de frutos climatéricos e não-climatéricos é fundamental em qualquer discussão em sistema de colheita, comercialização e pós-colheita. Para a conservação da qualidade do fruto é desejável a manutenção de sua taxa respiratória em níveis baixos, já que diminui seu consumo de carboidratos (SOZZI, 2007).

3.2.3. Etileno

O etileno é um fitohormônio envolvido na modulação de vários processos nos vegetais, como germinação de sementes, abscisão de órgãos, senescência de flores e frutos, respostas a estresse biótico (infecções de patógenos) e abiótico (lesões mecânicas, estresse hídrico, entre outros) e amadurecimento de frutos (COLLI; PURGATTO, 2008).

A síntese do etileno acontece no vacúolo e a sua movimentação pode se dar por difusão na fase gasosa dos espaços intercelulares dos tecidos ou através do floema e do xilema. O precursor natural do etileno é a metionina que é convertida em SAM (S-adenosilmetionina), que por sua vez é decomposta em ACC (1-amino-ciclopropano-1- carboxílico), precursor direto do etileno (FACHINELLO et al., 2008).

O etileno é percebido nos tecidos através de receptores que, no amadurecimento, são diferencialmente expressos. O modelo aceito para a sinalização do etileno propõe que na ausência do hormônio os receptores inibem a transdução do sinal e, consequentemente, as respostas ao etileno. Na presença do hormônio, os receptores são desativados e os elementos seguintes na cascata de sinalização tornam-se ativos, levando a mudanças nos padrões de expressão de genes etileno responsivos. Este modelo indica que quanto maior o número de receptores, menor a sensibilidade dos tecidos ao hormônio e vice-versa (JU et al., 2012).

Em plantas climatéricas, funcionam dois sistemas de produção de etileno. O sistema 1 (etileno auto inibitório) é responsável pelo nível basal do hormônio e é encontrado tanto em frutos climatéricos, como em não-climatéricos. O sistema 2 ocorre durante o amadurecimento do fruto climatérico, no qual o etileno estimula a sua própria biossíntese – isto é, ele é autocatalítico (TAIZ; ZEIGER, 2006, NAKATSUKA et al., 1998). Nesses frutos, a transição do sistema 1 para o sistema 2 é regulada pela expressão diferencial de genes que codificam isoformas de aminociclopropano carboxilato (ACC) sintases (ACS) e ACC oxidades (ACO) (KUMAR; KHURANA; SHARMA, 2014).

Como forma de diagnóstico, um fruto climatérico pode diferenciar-se de um não-climatérico por sua resposta na respiração e produção de etileno frente a aplicação de etileno e seus análogos, como propileno. O etileno exógeno adianta o pico respiratório em frutos climatéricos, propiciando a produção contínua autocatalítica de etileno, observada mesmo após o término à exposição ao fitohormônio, implicando em respostas nos índices de maturidade. Em frutos não-climatéricos a aplicação de etileno produz um pico respiratório de baixa magnitude, com incremento da taxa respiratória diante de doses crescentes do etileno. Para este padrão, na ausência de danos fisiológicos ou patológicos, não ocorre a produção autocatalítica de etileno, não havendo resposta duradoura ao tratamento (SOZZI, 2007).

A maioria das alterações fisiológicas pós-colheita de frutos é influenciada, direta ou indiretamente, pelo etileno. Em vários casos tem sido demonstrado que a redução da sua produção, assim como da sua ação, pode prolongar o período de conservação dos frutos (LELIÈVRE et al., 1997). Desse modo, técnicas de armazenamento que inibam a produção de

etileno e a atividade respiratória beneficiam o período de vida do fruto após a colheita (BIALE; YOUNG, 1962).

3.2.4. Compostos voláteis

As principais modificações metabólicas que ocorrem durante o amadurecimento incluem alterações na textura do fruto, coloração da casca e polpa, teor de açúcares e ácidos orgânicos e síntese de compostos voláteis, característicos do aroma do fruto maduro (ANESE, 2015).

O aroma é formado por centenas de substâncias voláteis de baixo peso molecular pertencente às mais diversas classes orgânicas incluindo os ésteres, álcoois, aldeídos, cetonas e terpenos, que são derivados de ácidos graxos, aminoácidos e carotenoides, precursores utilizados nas diferentes vias de biossíntese (Figura 3.3) (SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWINSOHN, 2008).

Figura 3.3 – Principais precursores e vias de formação de compostos voláteis em plantas. Adaptado de Schwab, Davidovich-Rikanati e Lewinsohn (2008).

A partir do metabolismo de carboidratos são formados principalmente terpenos, da via de terpenóides; e furanonas, de vias secundárias, como o ciclo das pentoses-fosfato. Do metabolismo de aminoácidos são gerados álcoois alifáticos, de cadeia ramificada ou aromáticos, carbonilas, ácidos e ésteres; sendo que os aminoácidos podem ser precursores diretos ou indiretos, ou seja, formam compostos não-voláteis que precisam de uma segunda

transformação enzimática para a formação dos voláteis. Por fim, o metabolismo de ácidos graxos é considerado o maior gerador de precursores de compostos voláteis, sendo catabolizados por duas grandes vias oxidativas: β -oxidação e a via das lipoxigenases (LOXs). A β -oxidação de ácidos graxos resulta na formação de acil-CoAs que são depois utilizados pelos álcool-aciltransferases para a geração de ésteres voláteis. A maioria dos álcoois, aldeídos, ácidos e ésteres encontrados no aroma de frutos são gerados pela degradação oxidativa dos ácidos linoleico e linolênico, principais substratos das LOXs (PÉREZ; SANZ, 2008).

Os grupos dos aldeídos e álcoois saturados e insaturados C6 e C9, importantes na composição do aroma de frutos, possuem cadeia curta e são produzidos também em resposta a injúria, com função na estratégia de defesa das plantas. Pelo menos três enzimas estão envolvidas na biossíntese destes compostos: lipoxigenase (LOX), hidroperóxido liase (HPL) e álcool desidrogenase (ADH), sendo os genes desta última enzima, que participa da produção de aromas, expressos particularmente durante o amadurecimento dos frutos (MATSUI, 2006).

Muitos resultados obtidos até o momento indicam que o etileno, hormônio estreitamente relacionado ao amadurecimento, tem papel fundamental no controle da formação de voláteis em diversos frutos (DEFILIPPI et al., 2005; SCHAFFER et al., 2007). No metabolismo de voláteis, as enzimas lipoxigenases (LOXs), hidroperóxido liases (HPLs), álcool desidrogenases (ADHs) e álcool acil transferases, são induzidas após o aumento dos níveis de etileno durante o amadurecimento (DIXON; HEWETT, 2000) e em seguida são observados aumento na produção de aldeídos, álcoois e ésteres voláteis de seis carbonos (C6-voláteis).

Outros hormônios detectados em frutos, como metil jasmonato (MJ), ácido abscísico (ABA) e ácido salicílico (AS), podem agir isoladamente ou associados controlando os efeitos uns dos outros (SOARES; MACHADO, 2007). A sinalização de cada um ainda não é bem compreendida, no entanto, resultados de literatura indicam que as etapas envolvidas não seguem uma via única e sim bifurcações nas cascatas que levam a diversos tipos de respostas. Há várias evidências demonstrando que tais hormônios agem em coordenação com o etileno estimulando não só mecanismos de defesa, como também as vias de produção de compostos voláteis de aroma (KONDO et al, 2005).

Com a ampla quantidade de compostos voláteis é difícil determinar funções precisas a cada um e seu impacto no aroma de cada fruto. No entanto, somente alguns poucos voláteis parecem ser importantes para o aroma particular de um determinado fruto. A identificação de voláteis chave e seus caminhos de biossíntese será um requisito para manipular por engenharia genética o aroma e o sabor dos frutos, como atualmente se faz com a firmeza e a coloração (SOZZI, 2007).

De acordo com Alves (2004), na maioria das frutas tropicais brasileiras observa-se que a classe química dos ésteres é a mais abundante seguida dos compostos terpênicos. Em frutas, os diferentes perfis de ésteres são determinantes das características de aroma e podem, de forma presumida, determinar diferenças entre cultivares (WYLLIE; FELLMAN, 2000).

Estudos sobre a composição do aroma, dentro da família mirtácea, revelam que a classe química predominante é a dos terpenos. As espécies que se incluem nesta característica são: goiaba (*Psidium guajava*) que tem como principais componentes do aroma o (E)- β -caryophylleno, α -terpineol, α -selineno, β -selineno, d-cadineno, 4,11-selinadieno e α -copaeno (PINO, et al., 2002); a pitanga (*Eugenia uniflora* L.) com os compostos trans-beta-ocimeno, cis-ocimeno, beta-ocimeno e beta-pineno (OLIVEIRA et al, 2006); e o araçá-boi (*Eugenia stipitata*) que tem como majoritários os compostos germacreno-D, beta-pineno, alfa-pineno (FRANCO; SHIBAMOTO, 2000).

3.3. Armazenamento Refrigerado

O armazenamento refrigerado é método mais efetivo para estender a vida útil dos frutos, pois reduz a velocidade do metabolismo, a incidência de doenças pela inibição do crescimento de microrganismos, restringe as atividades enzimáticas e respiratórias e inibe as perdas de água e de frescor, sem alterar a fisiologia do fruto, evitando a rápida deterioração (DAMIANI et al., 2008). O princípio desta técnica é que em temperaturas baixas ocorre a redução da mobilidade molecular, e consequentemente as reações químicas e processos biológicos ocorrem mais lentamente (BERK, 2009).

A refrigeração dos frutos favorece a comercialização, uma vez que a qualidade é preservada, o período para logística, exposição e escoamento é ampliado tanto no mercado local, como em caso de exportação por meios de transporte mais demorados, cujo frete tem custo menor, aumentando sua competição no mercado internacional (LIMA et al., 2006).

Cada fruta possui uma temperatura a partir da qual e abaixo dela ocasiona-se o congelamento, denominada temperatura letal, e uma temperatura mínima de segurança (TMS) que ao ser atingida e mantida por um determinado tempo de conservação, resulta em alterações sensoriais irreversíveis, amadurecimento deficiente e alterações fisiológicas (KLUGE et al., 1996). Em frutos de origem tropical e subtropical, ou o armazenamento refrigerado por período prolongado em temperatura baixas pode ocasionar o aparecimento de distúrbios fisiológicos

que afetam negativamente sua qualidade quando da transferência à condição ambiente (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Os sintomas de injúria por frio além de aparecimentos de danos, abrangem a perda de sabor, a descoloração e perda da habilidade de amadurecer (LUZA et al., 1992; WANG, 1993). Em alguns casos, a breve exposição dos tecidos vegetais à baixa temperatura pode não ocasionar o desenvolvimento dos sintomas, enquanto mantido sob refrigeração, porém, após a retirada da mesma, gradualmente se manifestam sob a condição de temperaturas mais elevadas. Quanto mais baixa a temperatura a qual o fruto é exposto, menor o tempo de exposição necessário para desencadear o desenvolvimento dos sintomas. Sua exteriorização visual é variável dependendo da espécie submetida ao frio, do tipo de tecido, do estágio de maturação e dos fatores climáticos (CHITARRA & CHITARRA, 2005; KLUGE et al., 2002).

Determinar a temperatura mínima de segurança para o armazenamento refrigerado de cada fruto representa a principal forma de evitar que injúrias pelo frio se desenvolvam e comprometam sua qualidade. Como isso nem sempre é possível, alternativas têm sido estudadas para reduzir ou aliviar os sintomas de injúria pelo frio, de modo a possibilitar o melhor aproveitamento da refrigeração na conservação de frutos sensíveis (LURIE, 1998).

Referências

- ADATI, R. T. **Estudos biofarmagnóstico de *Campomanesia phae* O. Berg. Landrum. Myrtacea**, 2001. 128f. Dissertação (Mestrado em Farmacognosia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 377, p. 2039-2055, 2002.
- ALVES, G. L. **Compostos voláteis importantes para o aroma de jenipapo (*Genipa americana* L.) e murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich)**. 2004. 136p. Tese de Doutorado em Ciências dos Alimentos. Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2004.
- ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; RUFINO, M. S. M. Prospecção da capacidade antioxidante e de compostos com propriedades funcionais em frutas tropicais. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 19. 2006. Cabo Frio. **Anais....** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Fruticultura.
- ANDRADE, B. A. G.; FONSECA, P. Y. G. LEMOS, F. **Cambuci – o fruto, a rota, cultura, sustentabilidade e gastronomia**. São Paulo: Ourivesaria da Palavra. 2011. 176p.

ANESE, R. O. **Fisiologia pós-colheita em fruticultura**. Santa Maria: UFSM, Colégio Politécnico: Rede e-Tec Brasil, 2015. 130 p.

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; BRON, I. U. Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 139-145, 2004.

BERK, Z. **Food process engineering and technology**. San Diego: Elsevier, 2009. 622p.

BIALE, J. B.; YOUNG, R. E. **Bioquímica de la maduración de los frutos**. Londres: Endeavour, 1962. 179p.

BIANCHINI, F. G.; BALBI, R.V.; PIO, R.; SILVA, D. F.; PASQUAL, M.; VILAS BOAS, E. V. B. Caracterização morfológica e química de frutos de cambucizeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 1, p. 10-18, 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria n. 685, de 27 de agosto de 1995. Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimento. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 set.1998b. Seção 1, n. 183E, p. 3.

CAMPANA, B. M. R. Índices de madurez, cosecha y empaque de frutas. In: SOZZI, G. O. **Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento** 1.ed. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires, 2007. p.703–768.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

COELHO, A. A.; CENCI, S. A.; RESENDE, E. D. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes pontos de colheita e após o amadurecimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 722-729, 2010.

COLLI, S.; PURGATTO, E. **Fisiologia vegetal**. In: KERBAUY, G. B., 2ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, p. 271-295, 2008.

CORDEIRO, G. D. **Fenologia reprodutiva, polinização e voláteis florais do cambuci *Campomanesia phae* (O. Berg) Landrun 1984 – Myrtaceae**. 2015. 89 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. "Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas." **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.1, p.15-19, 2010.

DAMIANI, C.; VILAS BOAS, E. V. B.; SOARES JUNIOR, M. S.; CALIARI, M.; PAULA, M. L.; PEREIRA, D. E. P.; SILVA, A. G. M. Análise física, sensorial e microbiológica de geleias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, p. 1418-1423, 2008.

DEFILIPPI, B. G.; DANDEKAR, A. M.; KADER, A. A. Relationship of ethylene biosynthesis to volatile production, related enzymes and precursor availability in apple peel and flesh tissues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 53, p. 3133–3141, 2005.

DIXON, J.; HEWETT, E. W. Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: a review. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v. 28, n. 3, p. 155-173, 2000.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas Brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos. 2002. 288p.

DONADO-PESTANA, C. M., BELCHIOR, T., FESTUCCIA, W. T., & GENOVESE, M. I. Phenolic compounds from cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg) fruit attenuate glucose intolerance and adipose tissue inflammation induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, Toronto, v. 69, p. 170-178, 2015.

FACHINELLO, J. C.; CHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. Fitoreguladores em fruticultura. In: FACHINELLO, J. C.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. **Fruticultura: fundamentos e práticas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. p.114-120.

FERRARI, A. S. **Avaliação de fitoquímicos e das atividades antioxidante celular e antiproliferativa de suco de grumixama e (*Eugenia brasiliensis*) e do suco de cambuci (*Campomanesia phaea*)**. 2014. 82p. Tese (Mestrado em Biociências Aplicadas a Saúde) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2014.

FRANCO, M. R. B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-cajá (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitala*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus. v. 48, p. 1263-1265, 2000.

FUJIHARA, M. A.; CAVALCANTI, R.; GUIMARÃES, A.; GARLIPP, R. **O valor das florestas**. São Paulo: Terra das Artes Editora, 2009. 347 p.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA & INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica**, períodos 2011 – 2012. Relatório técnico. Disponível em < <http://mapas.sosma.org.br/> > Acesso em 05/10/2016.

GONÇALVES, A. E. S. S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C**. 2008. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

JU, C.; YOON, G. M.; SHEMANSKY, J. M.; LIN, D. Y., YING, Z. I.; CHANG, J., CHANG, C. CTR1 phosphorylates the central regulator EIN2 to control ethylene hormone signaling from the ER membrane to the nucleus in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 109, n. 47, p. 19486–19491, 2012.

KADER, A. A. Fruit maturity ripening and quality relationships. **Acta Horticulturae**, New York, v. 485, p. 203–208, 1999.

KAWASAKI, M. L.; LANDRUM, L. R. A rare and potentially economic fruit of Brazil: cambuci *Campomanesia phaea* (Myrtaceae). **Economic Botany**, New York, v. 51, p. 403–407. 1997

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELO, J. C.; BILHALVA, A.B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Campinas: Editora Rural, 2002. 214 p.

KLUGE, R. A.; RODRIGUES, S.; KALIL, G. P. C.; RUSSO, R.; LUCAS, M. B.; MINAMI, K. Influência do estágio de maturação e da cobertura com polietileno na conservação de tomates frigorificados. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.53, n.1, p.6-13, 1996.

KONDO, S., SETHA, S.; RUDELL D. R.; BUCHANAN, D. A.; MATTHEIS, J. P. Aroma volatile biosynthesis in apples affected by 1-MCP and methyl jasmonate. **Postharvest Biology and Technology**. Amsterdam, v. 36, p. 61-68, 2005.

KUMAR, R., KHURANA, A., SHARMA, A. K. Role of plant hormones and their interplay in development and ripening of fleshy fruits. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 16, p. 4561-4575, 2014.

LANDRUM, L. R; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, New York, v. 49, n. 4, p. 508-536, 1997.

LELIÈVRE J. M.; LATCHÉ, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M. PECH, J. C. Ethylene and fruit ripening. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 101, p. 727-739, 1997.

LIMA, M. A. C.; SILVA, A. L.; AZEVEDO, S. S. N.; SANTOS, P. S. Tratamentos pós-colheita com 1-metilciclopropeno em manga ‘Tommy Atkins’: efeito de doses e número de aplicações. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 64-68, 2006.

LIMA, M. A. C. de; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ENÉAS-FILHO, J. Comportamento respiratório e qualidade pós-colheita de graviola (*Annona muricata* L.) ‘morada’ sob temperatura ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p.49-52, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 252 p.

LORENZI, H., SARTORI, S. F., BACHER, B.; LACERDA, M. **Brazilian fruits & cultivated exotics (for consuming *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2006. p.185.

LURIE, S. Postharvest heat treatments. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 14, p. 257-269, 1998.

LUTZ, M.; HERNÁNDEZ, J.; HENRÍQUEZ, C. Phenolic content and antioxidant capacity in fresh and dry fruits and vegetables grown in Chile. **Journal of Food**, Cidade do México, p. 1-7, 2015.

LUZA, J. G.; VAN GORSEL, R.; POLITO, V. S.; KADER, A. A. Chilling injury in peaches: a cytochemical and ultrastructural cell wall study. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, n. 1, p. 114-118, 1992.

MALUF, A. M.; EREIO, W. A. P. Secagem e armazenamento de sementes de Cambuci. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n. 7, p. 707-714, 2005.

MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas: Myrtales**. Santa Maria: Ed. UFSM. 1997. 304p.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.

MARTINS, L., **Fruteiras Nativas do Brasil e Exóticas**, Campinas, CATI, 2002, 112 p.

MATSUI, K. Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, Amsterdam, v. 9, p. 274-280, 2006.

MATSUO, T.; ITOO, S. A model experiment for astringency of persimmon fruit with high carbon dioxide treatment: *in vitro* gelation of kaki-tannin by reacting with acetaldehyde. **Agricultural Biology Chemistry**, Tokyo, v.46, n.3, p.683-689, 1982.

NEUMANN, A. I. C. P.; ABREU, E. S.; TORRES, E. A. F. S. Alimentos saudáveis, alimentos funcionais, fármaco alimentos, nutraceuticos...você já ouviu falar? **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 71, p. 19-23, 2000.

NAKATSUKA, A.; MURACHI, S.; OKUNISHI, H.; SHIOMI, S.; NAKANO, R.; KUBO, Y.; INABA, A. Differential expression and internal feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, and ethylene receptor genes in tomato fruit during development and ripening. **Plant Physiology**. Rockville, v. 118, n. 4, p. 1295-1305, 1998.

OLIVEIRA, A. L. et al. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 99, p. 1-5, 2006.

PÉREZ, A. G.; SANZ, C. Formation of fruit flavor. In: BRÜCKNER, B.; WYLLIE, S. G. **Fruit and Vegetable Flavour - Recent Advances and Future Prospects**. Woodhead Publishing. 2008. cap. 4, p. 41-70.

PIMENTEL, G. R. **Fruticultura Brasileira**. São Paulo: Nobel. 1976. p. 149

PINO, J. A.; MARBOT, R.; VÁZQUEZ, C. Characterization of volatiles in Costa Rican guava (*Psidium friedrichsthalianum* (Berg)) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6023–6026, 2002.

PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P.; SILVA, S. R.; ANDRADE, C. A. W. Ponto de colheita e maturação de frutos de camu-camu colhidos em diferentes estádios. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 6, p. 605-612, 2013.

PRIOR, R. L.; CAO, G. *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 27, n. 12, p. 1173- 1181, 1999.

PURVIS, A. C. The role of adaptive enzymes in carbohydrate oxidation by stressed and senescing plant tissues. **Hortscience**, Alexandria, v. 32, n. 7, p. 195-168, 1997.

REID, M. S. Maturation and maturity indices. In: LA RUE, J. H.; JOHNSON, R. S. (Ed.) **Peaches, Plums and Nectarines: Growing and Handling for Fresh Market**. Davis: University of California, Department of Agriculture and Natural Resources Publication. 1992. p. 21-28.

RHODES, M. J. C. The maturation and ripening of fruits. In: THIMANN, K.V.; ADELMAN, R. C.; ROTH, G.S. **Senescence in plants**. Florida: CRC Press, 1980. cap. 8, p.157-205.

ROMAGNOLO, M. B. **A família Myrtaceae na Estação Ecológica do Caiuá, Diamante do Norte, PR: projeto de pesquisa**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, 2009. 22p.

SANCHES, M. C. R. **Caracterização do fruto de cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg) e efeito sobre a destanização sobre o potencial funcional *in vitro***. 2013. 92 p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos e Nutrição Experimental) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**. New York, v. 8, p. 121-137, 2002.

SANTOS, J. L. V.; RESENDE, E. D.; MARTINS, D. R.; GRAVINA, G. A.; CENCI, S. A. MALDONADO, J. F. M. Determinação do ponto de colheita de diferentes cultivares de maracujá. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**. Ambiental, Campina Grande, v. 17, n. 7, p. 750–755, 2013.

- SCHAFFER, R. J.; FRIEL, E. N.; SOULEYRE, E. J. F.; BOLITHO, K.; THODEY, K.; LEDGER, S.; BOWEN, J.H.; MA, J. H.; NAIN, B.; COHEN, D.; GLEAVE, A.P.; CROWHURST, R. N.; JANSSEN, B. J.; YAO, J. L.; NEWCOMB, R. D. A genomics approach reveals that aroma production in apple is controlled by ethylene predominantly at the final step in each biosynthetic pathway. **Plant Physiology**, Rockville, v. 144, p. 1899-1912, 2007.
- SCHWAB, W.; RIKANATI, R. D.; LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **The Plant Journal**, Oxford, v. 54, p. 712-732, 2008.
- SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**. Chapadinha, v. 1, n. 1, p. 9, 2007.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 15, n.1, p. 71-81, 2002.
- SOUZA, A. **Variabilidade dos óleos voláteis de espécies de Myrtaceae nativas da Mata Atlântica**. 2009. 351 p. Tese (Doutorado em Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2009.
- SOZZI, G. O. Tecnología de postcosecha y su influencia sobre la calidad de los frutos. In: SOZZI, G. O. **Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento**. 1. ed. Buenos Aires: Universidade de Buenos Aires, 2007. p. 669–686.
- SUDHEER, K. P.; INDIRA, V. Maturity and harvesting of fruits and vegetables. In: PETER, K. V. **Post harvest technology of horticultural crops**. New Delhi: New India Publishing Agency, 2007. p. 31-46.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Trad. Santarén. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 722p.
- TAIPINA, M. S.; FONTS, M. A. S.; COHEN, V. H. Alimentos funcionais – nutracêuticos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n.100, p 28-29, 2002.
- VALLILO, M. I.; GARBELOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; LAMARCO, L. C. Características físicas e químicas dos frutos de cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, p. 241-244, 2005.
- VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, Barking, v. 111, p. 816-823, 2008.
- WANG, C. Y. Approaches to reduce chilling injury of fruits and vegetables. **Horticultural Reviews**, Leuven, v. 15, p. 63-95, 1993.

WYLLIE, S. G., FELLMAN, J. K. Formation of volatile branched chain esters in bananas (*Musa sapientum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 8, p. 3493-3496, 2000.

4. CARACTERIZAÇÃO DE CAMBUCI

Resumo

O cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] é uma espécie nativa da Mata Atlântica, porém ainda sem tradição na exploração comercial na fruticultura. Nesse sentido, há carência de estudos a respeito da seleção fenotípica de genótipos de cambucizeiro com vistas ao melhoramento genético da espécie. O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade fenotípica entre plantas adultas de cambuci de origem seminal a partir da caracterização físico-química e das propriedades funcionais e compostos voláteis dos frutos colhidos em duas safras (2014 e 2015) e duas diferentes localidades. As características físicas, morfológicas, químicas e minerais dos frutos variaram entre as safras avaliadas. Os resultados comprovaram a característica nutracêutica do cambuci, sendo um alimento funcional devido ao conteúdo de ácido ascórbico, compostos fenólicos, entre eles os taninos, com ação antioxidante e como fonte de fibra e minerais. A composição dos compostos voláteis dos frutos de cambuci foi influenciada pelas safras. O perfil aromático do cambuci foi destacado pela presença de metabólitos, com o terpeno como precursor, com notas aromáticas que variam entre frutal, herbácea, canforado e amadeirado.

Palavras chave: Cambucizeiro; Genótipos; Pós-colheita; Propriedades físico-químicas; Compostos voláteis

Abstract

Cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] is a native species of the Atlantic Forest, but without tradition in commercial exploitation. In this sense, there is a lack of studies about the phenotypic selection of cambucizeiro genotypes for the genetic breeding of this species. The objective of this study was to evaluate the phenotypic diversity between cambuci plants originated from seeds by physicochemical characterization, functional properties and volatile compounds of fruits harvested in 2014 and 2015 - from two different locations. The physical, morphological, chemical and mineral characteristics of the fruits varied among the evaluated harvests. The results proved the nutraceutical characteristic of cambuci, being a functional food due to the content of ascorbic acid, phenolic compounds - among them tannins - with antioxidant capacity and as source of fiber and minerals. The composition of the volatile compounds of cambuci fruits was influenced by the distinct harvests. The aromatic profile of cambuci was highlighted by the presence of metabolites, with terpene as precursor, with aromatic notes ranging from fruit, herbaceous, camphorated and woody.

Keywords: Cambucizeiro; Genotypes; Postharvest; Physicochemical proprieties; Volatile compounds

4.1. Introdução

A fruticultura brasileira destaca-se mundialmente e o seu sucesso está atribuído ao potencial produtivo do país. Em função da diversidade climática, solos férteis e água em abundância, o Brasil possui aptidão para produção de frutas de clima temperado, tropicais e subtropicais. Esta grande variedade de espécies dispõe de frutas com potencialidades

nutricionais, funcionais e agroindustriais a serem exploradas que, uma vez conhecidas, podem lançar o país a novos mercados com produtos diferenciados.

Estudos com espécies frutíferas não tradicionais vêm aumentando, principalmente com o enfoque em suas propriedades funcionais. Consideradas como alimentos promotores de saúde, estão associados à diminuição dos riscos de algumas doenças crônicas, tais como a obesidade, hipertensão, osteoporose, diabetes, câncer, mal de Alzheimer e de Parkinson, auxiliando também na redução dos níveis plasmáticos do colesterol total e triglicérides (CREDIDIO, 2008; MORAES; COLLA, 2006; SANTOS, et al., 1999; SEVERO, et al., 2008). Em cambuci, os compostos fenólicos melhoram a tolerância a glicose, redução da glicemia e insulinemia, protegendo contra níveis elevados de gordura (DONADO-PESTANA et al., 2015). A presença destes compostos pode estar relacionada com a sua propriedade antioxidante. Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SOARES, 2002).

Nesta classe de alimentos, o cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] se destaca principalmente por suas características nutricionais, funcionais e seu sabor exótico (RUFINO et al., 2010). Pertencentes à família Myrtaceae, esta espécie é nativa da Mata Atlântica brasileira e se mostra promissora por seu aroma intenso e agradável, compostos bioativos e potencialidade de uso industrial.

O conhecimento dos constituintes voláteis responsáveis pelo aroma característico das frutas é de grande importância, sobretudo por causa da influência que eles desempenham na qualidade dos frutos e seus produtos derivados (SONG; FORNEY, 2008). Dentro da família Myrtaceae estudos sobre a composição do aroma revelam que a classe química predominante do aroma é a dos terpenos, as espécies que se incluem nesta característica são: goiaba (*Psidium guajava*), a pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e uvaia (*Eugenia pyriformis*) (OLIVEIRA et al, 2006; MIYAZAWA, 2009). Todavia, não há relatos sobre o perfil de compostos voláteis de frutos de cambucizeiros.

A espécie é encontrada na vertente ocidental da Serra do Mar, que se inclina no planalto paulista e se estende até o sul de Minas Gerais (LORENZI, 1992). Atualmente é cultivado em pequenos pomares das regiões das cidades de Rio Grande da Serra, Santo André (na Vila de Paranapiacaba), Salesópolis, Biritiba-Mirim, Paraibuna e outras cidades com resquícios de Mata Atlântica, como Natividade da Serra (SLOW FOOD BRASIL, 2016).

Apesar do cambuci ser originário do Brasil, ainda não existem resultados de trabalhos de melhoramento vegetal e tampouco variedades comerciais. Os poucos plantios de cambuci

no país são de plantas originárias de sementes, os produtores identificam plantas que aparentemente são superiores à maioria da população, em função de suas características agrônomicas e qualidade do fruto e multiplicam os plantios, o que resulta em alta variabilidade entre as plantas.

A variabilidade dos frutos é percebida nas características fenotípicas das plantas e dos frutos. Morfologicamente, há uma diversidade de formatos e tamanhos utilizados para uma classificação de variedades, contudo a distinção destas variedades foi realizada a partir de observações não comprovadas por métodos científicos. Além disto, as variações podem ser decorrentes das condições ambientais de cultivo ou práticas de manejo (DONADIO et al., 2012).

Estudos sobre a caracterização química e física dos frutos de cambucizeiro podem contribuir para a seleção de cultivares, bem como o desenvolvimento de tecnologia que agregue valor e que permita sua aplicação em novos produtos, o que é também de grande importância para o desenvolvimento comercial e econômico da espécie. Atualmente, os produtores classificam os frutos de algumas plantas em suas propriedades conforme características que observam cotidianamente, como grupo de plantas com frutos mais doces, ou mais ácidos, de tamanho pequeno ou mais graúdo.

Diante dos aspectos levantados, este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade de cambucis a partir da caracterização frutos originados de semente, quanto aos seus aspectos físicos e químicos, propriedades funcionais e compostos voláteis dos frutos e baseado nas informações sobre distintos tipos de cambucis, descritos pelos produtores, verificar a existência de grupos de plantas.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Fase observacional

O experimento foi realizado em 2014 em duas propriedades comerciais localizadas nos municípios de Natividade da Serra – SP (23°3' S e 45°27' W e 712 m de altitude) e Salesópolis-SP (23°31' S e 45°50' W e 812 m de altitude) (Figura 4.1). Em Natividade da Serra – SP foram avaliados frutos provenientes de 48 cambucizeiros com idade de 8 anos e em Salesópolis frutos provenientes de 66 cambucizeiros com 6 anos de idade.

Figura 4.1 - Mapa do estado de São Paulo, destacando os municípios de Salesópolis-SP e Natividade da Serra – SP, envolvidos na pesquisa.

Coletou-se manualmente 10 frutos por planta quando estes atingiram o ponto de colheita, adotado pela população local e que corresponde à abscisão natural dos frutos. Os frutos foram acondicionados em caixas de papelão forradas com plástico-bolha e transportados em carro com ar condicionado ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) para o Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Hortícolas, do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP em Piracicaba, SP, a 250 e 320 km de distância de Salesópolis e Natividade da Serra, respectivamente.

Os frutos foram avaliados individualmente pelas características: tamanho (diâmetro transversal e altura do fruto); firmeza externa; coloração da casca; rendimento em polpa; número de sementes; índice de adstringência; acidez titulável e teor de sólidos solúveis (ver metodologia das análises).

4.2.2. Caracterização de cambucis dos municípios de Natividade da Serra e Salesópolis – SP

Nesta fase os cambucis foram caracterizados quanto ao local de cultivo: Natividade da Serra – SP e Salesópolis – SP nos anos de 2014 e 2015. Em cada local foram amostradas aleatoriamente entre 20 a 30 plantas, com frutos no ponto de colheita correspondente à abscisão natural, das quais foram coletados 5 por planta. Os frutos foram transportados para o Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Hortícolas, do Departamento de Produção Vegetal, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, em Piracicaba, SP, a 250 e 320 km de distância de Salesópolis e Natividade da Serra, respectivamente, em carro com ar condicionado ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), acondicionados em caixas de papelão revestidas internamente com plástico “bolha”.

No laboratório, os frutos com danos mecânicos, podridões e desuniformidades foram eliminados. Os cambucis foram avaliados quanto ao tamanho, coloração da casca, firmeza da polpa, número de sementes, rendimento, umidade, teores de sólidos solúveis (SS), pH, acidez

titulável (AT), *ratio* (SS/AT) e ácido ascórbico. Parte das amostras foi congelada em N₂ líquido e preservada em ultra freezer a -80 °C para análises de açúcares solúveis totais, compostos fenólicos totais, taninos solúveis e totais, pectinas, ácidos orgânicos, compostos voláteis, atividade antioxidante (método ORAC e DPPH), minerais totais (Fe, Mn, Cu, Zn, Na, B, Al, Co, P, K, Ca, Mg, S) e composição centesimal.

4.2.3. Metodologias de análise

Firmeza da polpa: determinada com o penetrômetro digital, marca Tr-Turoni, Forlì-Itália (Sammar – 53200), com ponteira de 8 mm de diâmetro. Os frutos foram partidos longitudinalmente e foram realizadas 2 leituras nas extremidades opostas, sendo elas expressas em Newton (N).

Coloração da casca: determinada com colorímetro (Minolta CR-300, Osaka, Japão) com a seguinte configuração: sistema de cor L* a* b* C* h°, iluminante D65 e observador padrão 2°. Tomando-se duas leituras por fruto na face superior.

Teor de sólidos solúveis: determinado com o refratômetro digital Atago modelo Palette 101, Tóquio, Japão, utilizando-se polpa homogeneizada e filtrada. Foram realizadas duas leituras por repetição e os resultados foram expressos em °Brix.

Acidez titulável: determinada por titulometria de neutralização, na qual 10 g de polpa foram homogeneizadas em 90 mL de água destilada. A solução foi titulada com NaOH 1 N, até pH 8,10 em potenciômetro digital (Tecnal, Tec 03 MP). Os resultados foram expressos em % de ácido cítrico.

Ácido ascórbico: determinada por titulometria de neutralização, na qual 5 g de polpa foram homogeneizadas em 25 mL de ácido oxálico. A titulação da solução foi feita com 2,6 dicloro-fenol-indofenol de sódio.

Açúcares solúveis totais: determinados segundo o descrito por Dubois et al. (1956) e expressos em gramas de glicose 100 g⁻¹. a) extração de açúcares solúveis: 5 g de polpa foram diluídas em 70 mL de água destilada. Após o aquecimento por 30 minutos em vapor, a amostra foi filtrada em papel de filtro e o volume completado para 100 mL. b) determinação de açúcares solúveis: 2 mL do extrato diluído foram reagidos com 1 mL de solução de fenol (5%) e 5 mL de ácido sulfúrico. Após repouso por 10 minutos em temperatura ambiente e resfriado em água destilada, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm. Como padrão foi utilizada a solução contendo 40 µg glicose mL⁻¹.

Compostos fenólicos totais: determinados segundo o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão, conforme a recomendação de Woisky & Salatino (1998). Os resultados foram expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de ácido gálico. a) extração: em 0,5 mL da amostra diluída (1 %) foram adicionados 2,5 mL do reagente de Folin Ciocateau (1:10), após a homogeneização e repouso por 3 minutos foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio (4%). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 740 nm após 2 horas de repouso ao abrigo da luz.

Taninos solúveis e totais: determinados por espectrofotometria, utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. a) Extração de taninos totais – em 1 g da amostra triturada foi acrescentado 30 mL de HCL 0,56 N. A amostra foi homogeneizada e submetida ao banho-maria à 100 °C durante 30 min. Após atingirem a temperatura ambiente, as amostras foram vertidas em balões volumétricos de 100 mL que continham 6,6 mL de NaOH 2,5 N, o volume foi completado com água destilada. b) Extração de taninos solúveis – 1 g da amostra triturada em 25 mL de MeOH 80 % foram agitados e posteriormente centrifugados por 30 min, a 22 °C, sob 10000 rpm. O processo foi repetido duas vezes e o sobrenadante foi vertido em balão volumétrico de 100 mL, completados com água destilada. A quantificação de taninos solúveis e totais foi realizada em uma alíquota de 1 mL do extrato adicionada a um tubo de ensaio com 7,5 mL de água destilada, 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (50 %), após 3 minutos adicionou-se 1 mL de solução de carbonato de sódio supersaturado. A leitura foi realizada após uma hora em espectrofotômetro com absorbância a 725 nm. Como padrão foi utilizado uma solução de ácido gálico ($0,1 \text{ g L}^{-1}$) e os resultados expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de polpa (TAIRA, 1996).

Pectinas solúvel e total: extraídas de acordo com McCready; McComb (1952) e quantificadas pela técnica de Bitter; Muir (1962), sendo os resultados expressos em $\text{mg ácido galacturônico. } 100 \text{ g}^{-1}$. a) extração de pectina total: em 5g da polpa foram adicionados 25 mL de álcool etílico 95%, após a homogeneização e repouso em geladeira por 30 minutos, a amostra foi filtrada em papel de filtro comum, sendo lavado por duas vezes, o resíduo contido no papel com 10 mL de álcool etílico 75%. Ao resíduo foram adicionados 50 mL de solução tetrassódico de EDTA, neutralizado com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 N, tendo como indicador papel de tornassol. Após o repouso em geladeira por 30 minutos, a amostra foi acidificada com ácido acético glacial, tendo como indicador papel de tornassol, foram adicionados 100 mg de pectinase e a solução foi agitada por 1 hora em mesa agitadora. O filtrado foi completado para o volume de 100 mL com solução tetrassódico de EDTA. b) extração de pectina solúvel: em 5 g da polpa foram adicionados 20 mL de álcool etílico 95%;

após a homogeneização e agitação por 1 hora em mesa agitadora, a mostra foi filtrada em papel de filtro e o resíduo lavado duas vezes com 20mL de álcool etílico 75%. Foram adicionados 20 mL de água destilada e a solução foi agitada por 1 hora em mesa agitadora, seguido da filtragem. c) determinação de pectinas solúvel e total: o extrato diluído (pectinas totais e solúveis) foram pipetados em triplicatas, de modo a se obter uma solução que apresentasse o valor de absorbância encontrados na curva padrão. Em banho de gelo, foram acrescentados 3,6 mL da solução H₂SO₄/tetraborato (borax) em cada tubo de ensaio; após a homogeneização em Vortex a velocidade moderada por 2 vezes, os tubos foram aquecidos a 100 °C em banho-maria por 5 minutos e resfriados em banho de gelo e acrescidos com 0,06 mL (60 µl) de m-hidroxidifenil 0,15% e homogeneizados em Vortex a velocidade moderada. A leitura foi realizada após 15 min. em espectrofotômetro com absorbância a 535 nm.

Análise de perfil de compostos voláteis: foram realizadas em 4 replicatas, com método de micro extração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid Phase Microextraction*) (PESIS et al., 2009). A análise empregou uma resina de carboxeno, divinilbenzeno e polidimetilsiloxano de 100 µm de espessura da Supelco® (CAR/DVB/PDMS).

Aproximadamente 3 g de amostra (provenientes de 4 frutos sem casca) acrescidos de 7 mL de solução de NaCl a 30 % em *vials* de 20 mL, com tampa de septo de silicone, foram congelados a -20 °C para análise posterior. O material foi descongelado a 40 °C em banho-maria com agitação intensa a 600 rpm por barra magnética. Os voláteis foram acumulados por 10 minutos no *headspace* do *vial*, onde a fibra de SPME foi introduzida por 50 minutos. Uma vez capturados, os compostos voláteis foram dessorvidos da fibra pela exposição ao calor do injetor do cromatógrafo (200 °C) por 3 min. Foi utilizado o cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 6890 acoplado a um detector seletivo de massas Hewlett-Packard modelo 5973. A coluna cromatográfica empregada foi a Supelcowax 10 (30 m, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura do filme). O programa de temperatura utilizado foi: rampa de temperatura de 2 °C min⁻¹ de 40 °C à 150 °C. A temperatura da interface entre o cromatógrafo e o detector seletivo de massas foi de 230 °C e a ionização foi feita por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons mantida a 150 °C. Os espectros de massas obtidos foram comparados com os da biblioteca NIST versão 1.6 e considerados aqueles com índice de similaridade acima de 70 %.

Testes preliminares foram feitos com diferentes tempos de equilíbrio entre a amostra e os voláteis no *headspace* do *vial* (10 ou 15 min), temperaturas de aquecimento (30 ou 40 °C) e tempos de exposição da fibra no *headspace* (20, 30 ou 50 min). O critério utilizado para avaliação desses parâmetros foi baseado na qualidade dos cromatogramas gerados,

considerando o número, tamanho e área dos picos. Dessa forma, foi possível determinar as melhores condições para o ensaio. Esta análise foi realizada no Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos do Depto. Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP em São Paulo.

Composição centesimal: a) Umidade: determinada segundo metodologia 950.46 descrita pela AOAC (2005) através de comparação de peso antes e pós-secagem em estufa a 105 °C até atingir peso constante. Os resultados foram expressos em porcentagem de umidade. b) Proteína bruta: quantificada pelo método de micro-Kjeldahl, o qual determina o nitrogênio da amostra seca, empregando-se 6,25 como fator de conversão nitrogênio/proteína, conforme a metodologia ditada por Johnson & Ulrich (1959). Os resultados foram expressos em porcentagem de proteína bruta em base úmida. c) Lipídios: determinado em amostragem de 2 g de material seco e triturado, em triplicata, através de extração com solvente hexano no aparelho de Soxhlet durante 8 horas. O resíduo de solvente que permanece na fração lipídica foi removido utilizando-se estufa de circulação de ar regulada a 105 °C (AOCS, 2003). Os resultados foram expressos em porcentagem em base úmida. d) Cinzas (minerais): foram determinadas por amostragem de 2 g de material seco e triturado, em triplicata, utilizando-se forno mufla regulado à temperatura 550 °C e por um período de 48 h, segundo o método 940.26 descrito pela AOAC (2005). e) Fibras: a determinação de fibras insolúveis e solúveis foi realizada de acordo com o método 991.43 descrito pela AOAC (2005), através da digestão enzimática das amostras com controle de pH. As amostras foram filtradas em cadinhos porosos com auxílio de bomba a vácuo utilizando-se, para fibras insolúveis, etanol 78 % e acetona. A fibra solúvel foi precipitada com auxílio de etanol e filtrada com uso dos mesmos reagentes. Realizado no Laboratório de Frutas e Hortaliças do Dep. Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN).

Minerais totais (Fe, Mn, Cu, Zn, B, P, K, Ca, Mg, S): determinados através de digestão nitro-perclórica, segundo Malavolta et al. (1997) e determinados por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado (ICP-OES), realizada no laboratório de Tecidos Vegetais do Departamento de Solos da ESALQ/USP.

Atividade antioxidante: a) pelo método ORAC: determinada pelo monitoramento do efeito dos extratos etanólicos obtidos da polpa das frutas no decaimento da fluorescência, provocado pela oxidação da fluoresceína induzida pelo radical peroxil (ORAC). Foi utilizada a metodologia descrita por Ou et al. (2001), sendo a atividade antioxidante expressa como valor ORAC (μmol de trolox g^{-1} fruta). Realizados no Laboratório de Bioquímica de Alimentos do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, ESALQ/USP. b) pelo sequestro do

radical livre DPPH: determinada em extratos etanólicos das polpas das frutíferas de acordo com a metodologia descrita por Rufino et al. (2007), os extratos foram obtidos de amostras com aproximadamente 2 g de fruta fresca, as diluições utilizadas foram 1:1, 1:5 e 1:10, sendo a atividade expressa em $EC_{50} = g \text{ fruto } g^{-1} \text{ DPPH}$.

4.2.4. Análise dos dados

Na fase observacional o efeito simultâneo dos atributos dos frutos de cada planta foi analisado por meio da estatística multivariada, pela análise de agrupamentos (*cluster*), a fim de repartir os indivíduos em grupos homogêneos, de modo que cada grupo fosse identificado. Para tanto, se efetuou a padronização dos dados originais, sendo em seguida, submetidos à análise de agrupamento hierárquica utilizando-se como coeficiente de semelhança a medida de dissimilaridade euclidiana (HAIR et al., 2005). O método de agrupamento aplicado para identificar a similaridade entre grupos foi o de Ward. Após a análise do dendrograma, os resultados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e a comparação das médias pelo Teste de Tukey (5 %), a fim comprovar quais variáveis diferiram significativamente entre os grupos sugeridos pela análise multivariada e, ao mesmo tempo, discriminaram os grupos.

Os dados da caracterização foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e a comparação das médias pelo Teste de Tukey (5 %), a fim comprovar as diferenças entre local de coleta e ano de produção. Os dados do perfil dos compostos voláteis foram analisados utilizando métodos estatísticos multivariados não supervisionados (Análise de Componentes Principais (ACP), Análise de Agrupamento Hierárquico (AAH) visualizada por Heatmaps com a finalidade de avaliar, de forma global, as diferenças entre as localidades onde os frutos de cambuci foram colhidos em relação às composições dos metabólitos voláteis.

4.3. Resultados e Discussão

4.3.1. Fase observacional

A análise de agrupamento (*cluster*) permitiu classificar em 3 grupos a qualidade dos frutos provenientes das áreas avaliadas em Natividade da Serra - SP. Os grupos 1, 2 e 3 foram compostos por 11, 14 e 23 plantas, respectivamente (Figura 4.2). Em Salesópolis-SP, foram

identificados 2 grupos distintos, definidos como grupos 4 e 5 compostos por 21 e 45 plantas, respectivamente (Figura 4.3).

Figura 4.2 - Agrupamento de plantas de cambucizeiros oriundas de Natividade da Serra- SP.

Figura 4.3 - Agrupamento de plantas de cambucizeiros oriundas de Salesópolis - SP.

De acordo com os resultados da análise de variância e comparação das médias, as variáveis responsáveis pela discriminação dos clusters foram: rendimento da polpa, diâmetro transversal e altura do fruto (Tabela 4.1) para plantas de Natividade da Serra, e coloração da casca, diâmetro transversal e altura do fruto (Tabela 4.2) para plantas de Salesópolis. As demais variáveis analisadas não diferiram estatisticamente e, portanto, não foram discriminantes.

O grupo 1 foi formado pelos acessos que apresentaram menores valores de diâmetro transversal e altura dos frutos, e menor rendimento da polpa (Tabela 4.1). Os grupos 2 e 3 foram caracterizados por apresentarem o mesmo rendimento de polpa, no entanto diferiram entre si e do grupo 1 quanto ao diâmetro transversal e altura do fruto.

O rendimento de polpa dos frutos provenientes dos grupos 2 e 3 (Tabela 4.1), são compatíveis aos resultados encontrados por Vallilo et al. (2005), que considera o valor de 80,56 %, como um dos atributos de qualidade do cambuci, justificativa do seu potencial para industrialização. A alta porcentagem de polpa também é desejável para o consumo *in natura*, pois o consumidor considera esta característica como um critério na ocasião da compra (DIAS et al., 2011).

Tabela 4.1- Variáveis discriminatórias do agrupamento de cambucizeiros do município de Natividade da Serra –SP, 2014.

Grupos	Diâmetro transversal do fruto (mm)	Altura do fruto (mm)	Rendimento da polpa (%)
1	48,60 c	36,14 c	69,41 b
2	65,08 a	44,46 a	79,51 a
3	54,91 b	39,14 b	80,20 a

Dados seguidos de mesma letra na coluna não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de significância pelo teste Tukey.

A diferença entre as plantas dos grupos 4 e 5 foi determinada pelas características de coloração da casca, diâmetro transversal e altura do fruto. O grupo 4 ficou constituído por plantas com frutos de maior tamanho e coloração da casca mais amarelada, comparado com o grupo 5 (Tabela 4.2).

Tabela 4.2- Variáveis discriminatórias do agrupamento de cambucizeiros do município de Salesópolis –SP, 2014

Grupos	Diâmetro transversal do fruto (mm)	Altura do fruto (mm)	Coloração da casca (h°)
4	52,97 a	38,11 a	98,19 b
5	50,54 b	36,47 b	107,73 a

Dados seguidos de mesma letra na coluna não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5 % de significância pelo teste Tukey.

A partir destes resultados foi possível definir como variáveis discriminantes aquelas que foram comuns às plantas dos dois locais estudadas: diâmetro transversal e altura do fruto. O agrupamento de plantas a partir dos fatores: tamanho, rendimento e cor dos frutos, pode não

ser adequado, a diferença observada entre os grupos poderia não se repetir. Portanto, para efeito de esclarecimento, um experimento paralelo foi iniciado com o objetivo de avaliar as diferenças entre plantas, afim de não desviar o foco da tese. Para a etapa de caracterização dos cambucis, foi considerado cada local de cultivo como um grupo, a fim de garantir a quantidade necessária de frutos para os experimentos posteriores.

4.3.2. Caracterização de cambucis dos municípios de Natividade da Serra e Salesópolis – SP

4.3.2.1. Características físicas

O cambuci (*Campomanesia phaea*), apresentou frutos com morfologia característica da espécie, em formato levemente achatado ($DL/DT < 1$) (Tabela 4.3). Essa característica é importante, pois, dentre outras implicações, a desuniformidade do formato restringe a utilização dos frutos para a fabricação de produtos processados (VALLILO et al., 2005). Os resultados referentes ao diâmetro longitudinal e transversal e da relação DL/DT revelaram diferenças entre as localidades e as épocas de colheita, o que cria perspectivas para o melhoramento genético da espécie.

A casca dos frutos de *C. phaea* apresentou coloração verde-claro indicada pela luminosidade, cromaticidade e ângulo hue (Tabela 4.3). Os frutos apresentaram as mesmas características em relação à cor da casca, independentemente do local de colheita. A diferença observada foi em relação apenas à variável ângulo hue entre os anos de colheita em ambas as localidades. Essas variações provavelmente são decorrentes da diferença entre os anos de produção, relacionadas à incidência de radiação, pluviosidade, temperatura, etc.

O número de sementes por frutos apresentou diferenças entre localidades e entre colheitas (Tabela 4.3). É importante ressaltar que os frutos foram colhidos de árvores de mudas seminais plantadas em fragmentos florestais. Nesse aspecto espera-se uma variabilidade natural entre indivíduos, o que reflete diretamente sobre a uniformidade dos frutos. Bianchini (2016) relatou maior variação no número de sementes por fruto, entre os valores médios de 4,9 a 17,5, em um estudo onde foram avaliados acessos de cambucizeiros individualmente.

Os teores de umidade nos cambucis são bastante elevados ($> 80\%$), sendo classificados como frutos carnosos e suculentos, esta característica de polpa é comumente os frutos da família Myrtaceae (VALLILO et al., 2005).

Tabela 4.3 – Valores médios das características físicas e morfológicas de frutos de cambucizeiros coletados em duas localidades (Salesópolis – SP e Natividade da Serra – SP) em duas colheitas realizadas em dois anos consecutivos (2014 e 2015), expressos em média $\pm$ desvio padrão

Características	Salesópolis		Natividade da Serra	
	2014	2015	2104	2015
Diâmetro longitudinal do fruto (mm)	46,10 $\pm$ 2,45 Aa	37,49 $\pm$ 1,64 Ab	41,50 $\pm$ 1,36 Ba	39,52 $\pm$ 2,36 Aa
Diâmetro transversal do fruto (mm)	56,09 $\pm$ 4,27 ^{ns}	52,52 $\pm$ 0,42 ^{ns}	56,22 $\pm$ 3,58 ^{ns}	57,31 $\pm$ 2,35 ^{ns}
Relação DL/DT	0,82 $\pm$ 0,02 Aa	0,71 $\pm$ 0,03 Ab	0,74 $\pm$ 0,05 Ba	0,69 $\pm$ 0,02 Bb
Luminosidade	44,10 $\pm$ 1,07 Aa	39,33 $\pm$ 1,37 Bb	44,15 $\pm$ 1,35 Aa	45,26 $\pm$ 2,05 Aa
a*	-5,70 $\pm$ 0,64 ^{ns}	-4,22 $\pm$ 1,29 ^{ns}	-5,21 $\pm$ 1,34 ^{ns}	-3,90 $\pm$ 2,15 ^{ns}
b*	12,97 $\pm$ 1,36 ^{ns}	13,81 $\pm$ 1,90 ^{ns}	12,38 $\pm$ 2,40 ^{ns}	10,97 $\pm$ 3,48 ^{ns}
Cromaticidade	14,20 $\pm$ 1,48 ^{ns}	14,52 $\pm$ 2,17 ^{ns}	13,46 $\pm$ 2,69 ^{ns}	11,71 $\pm$ 3,95 ^{ns}
Cor da casca (Hue)	122,57 $\pm$ 1,60 Aa	104,85 $\pm$ 3,80 Ab	112,18 $\pm$ 1,97 Aa	107,58 $\pm$ 6,09 Ab
Número de sementes (unid.)	11,85 $\pm$ 0,50 Ab	13,25 $\pm$ 2,45 Aa	12,05 $\pm$ 0,91 Aa	10,20 $\pm$ 0,82 Bb
Umidade (%)	80,44 $\pm$ 1,16 Aa	80,47 $\pm$ 1,03 Aa	80,51 $\pm$ 1,14 Aa	55,02 $\pm$ 1,78 Bb
Firmeza da polpa (N)	3,23 $\pm$ 0,60 Aa	1,28 $\pm$ 0,33 Bb	2,57 $\pm$ 0,68 Aa	3,00 $\pm$ 0,81 Aa
Rendimento (%)	83,43 $\pm$ 1,50 Ab	86,06 $\pm$ 1,17 Aa	85,93 $\pm$ 5,70 Ab	89,98 $\pm$ 0,65 Aa

^{ns} = não significativo. Letras minúsculas entre colheitas em um mesmo local e letras maiúsculas entre localidades em uma mesma época de colheita não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os frutos apresentaram a polpa com baixa resistência a penetração ou firmeza ($> 3,5$ N), caracterizando-os como muito tenros e frágeis (Tabela 4.3), principalmente os frutos colhidos em Salesópolis em 2015. Isso torna os frutos susceptíveis a danos mecânicos e sensíveis ao manuseio. Essas condições têm implicações diretas sobre o manejo a ser adotado nas atividades de colheita e pós-colheita. Um fruto que tem a firmeza semelhante à do cambuci e está sujeito às mesmas limitações é o morango, em cultivo convencional o valor médio é de 4 N. (AVILA et al., 2012).

O rendimento da polpa foi elevado, com valores superiores a 80 %, independentemente do local de colheita. Da mesma forma que foi observada alteração do número de sementes entre as duas colheitas realizadas, também se constatou essa diferença em relação ao rendimento. Provavelmente, essa variação esteja relacionada aos fatores extrínsecos às plantas, tais como condições edafoclimáticas.

4.3.2.2. Características químicas

Os resultados da composição química dos frutos de *C. phaea* revelou diferenças entre as localidades de coleta e entre colheitas realizadas.

Os valores de pH e de acidez titulável total (AT) foram caracterizados como ácidos ($\text{pH} < 2,90$ e acidez $< 3,0$). Os frutos com menores valores de pH corresponderam àqueles colhidos na localidade de Natividade da Serra -SP (Tabela 4.4). Em 2014, Natividade da Serra apresentou maior acidez e Salesópolis apresentou superioridade em 2015, não havendo diferença de acidez titulável total em função do local. Os valores de acidez nestes locais e safras variaram entre 1,37 a 3,02 %. Comparado com outras frutas, a acidez titulável do cambuci é superior ao da goiaba vermelha (0,51 %) e inferior que do maracujá-amarelo (4,09 %) (AZZOLINI, JACOMINO; BRON, 2004; SILVA et al., 2008).

Esta acidez similar ao maracujá pode ser um atrativo para consumidores que se identificam com este paladar, ou então ser aproveitada pela indústria que prefere frutos com alta acidez devido ao não favorecimento das atividades enzimáticas e inibição do desenvolvimento de microrganismos (HOFFMAN, 2001)

Tabela 4.4 – Valores médios das características químicas de frutos de cambucizeiros coletados em duas localidades (Salesópolis – SP e Natividade da Serra – SP) em duas colheitas realizadas em dois anos consecutivos (2014 e 2015), quantificados em base fresca, expressos em média $\pm$ desvio padrão

Características	Salesópolis		Natividade da Serra	
	2014	2015	2014	2015
pH	2,86 $\pm$ 0,01 Aa	2,82 $\pm$ 0,09 Aa	2,62 $\pm$ 0,06 Ba	2,70 $\pm$ 0,05 Ba
Acidez titulável (AT) (%)	1,37 $\pm$ 0,07 Bb	3,02 $\pm$ 0,14 Aa	1,94 $\pm$ 0,11 Aa	2,09 $\pm$ 0,20 Ba
Sólidos solúveis (SS) (°Brix)	10,31 $\pm$ 0,20 ^{ns}	10,38 $\pm$ 0,42 ^{ns}	10,61 $\pm$ 0,54 ^{ns}	10,34 $\pm$ 0,56 ^{ns}
Açúcares solúveis (g glicose/100g)	5,52 $\pm$ 0,47 Ab	5,88 $\pm$ 0,22 Aa	4,79 $\pm$ 0,87 Ab	5,77 $\pm$ 0,24 Aa
Ratio (SS/AT)	7,53 $\pm$ 0,25 Aa	3,45 $\pm$ 0,27 Bb	5,48 $\pm$ 0,31 Ba	4,98 $\pm$ 0,73 Aa
Teor de ác. ascórbico (mg /100g)	47,74 $\pm$ 1,86 ^{ns}	61,51 $\pm$ 17,94 ^{ns}	64,983 $\pm$ 11,44 ^{ns}	59,14 $\pm$ 14,62 ^{ns}
Compostos fenólicos (mg/100g)	429,51 $\pm$ 3,92 Ba	416,50 $\pm$ 5,27 Bb	496,22 $\pm$ 10,54 Ab	558,53 $\pm$ 43,11 Aa
Taninos totais (mg ác. gálico/100g)	48,41 $\pm$ 6,33 Aa	50,48 $\pm$ 5,78 Ba	45,12 $\pm$ 4,18 Ab	63,06 $\pm$ 10,35 Aa
Taninos solúveis (mg ác. gálico/100g)	33,09 $\pm$ 1,05 Ba	28,89 $\pm$ 1,59 Bb	38,75 $\pm$ 0,67 Ab	43,50 $\pm$ 10,81 Aa
Orac (umol de trolox/g fruta)	50,59 $\pm$ 6,55Aa	30,62 $\pm$ 6,35 Bb	45,95 $\pm$ 3,40 Aa	54,54 $\pm$ 8,11 Aa
DPPH (g fruta/g DPPH)	1163,17 $\pm$ 12,54 Aa	1144,02 $\pm$ 11,52 Aa	1133,17 $\pm$ 3,20 Ba	1132,87 $\pm$ 9,64 Aa
Pectinas totais (mg ác. galacturônico/100g)	1058,17 $\pm$ 45,03 Aa	716,80 $\pm$ 68,12 Ab	856,66 $\pm$ 150,51 Ba	620,12 $\pm$ 20,95 Bb
Pectinas solúveis (mg ác. galacturônico/100g)	262,66 $\pm$ 79,02 Aa	247,44 $\pm$ 16,92 Aa	190,86 $\pm$ 12,15 Ab	263,35 $\pm$ 42,79 Aa

^{ns} = não significativo. Letras minúsculas entre colheitas em um mesmo local e letras maiúsculas entre localidades em uma mesma época de colheita não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os conteúdos de SS não variaram entre local e ano de colheita, apresentando valores médios entre 10,31 e 10,61 °Brix. Embora outros compostos também estejam envolvidos, o teor de sólidos solúveis nos fornece um indicativo da quantidade de açúcares solúveis presente nas frutas (FACHINELLO; NACHTIGAL; KERSTEN, 2008). Os resultados referentes aos teores de açúcares solúveis, portanto, não difere entre as localidades, mas difere entre anos, para ambos locais. A exemplo da comparação utilizada para acidez, a goiaba possui 7,60 e o maracujá 18,8 °Brix.

As variáveis AT e SS isoladamente não explicam o sabor ácido característico do cambuci. Neste caso, a relação SS/AT - *ratio* - é mais adequada para avaliar o sabor, além de ser um importante parâmetro de qualidade de frutos (LIMA et al., 2002). A relação SS/AT variou entre as localidades de acordo com a acidez, respeitando a relação inversamente proporcional. No ano de 2014, a relação SS/AT foi maior em Salesópolis e em 2015 em Natividade da Serra (Tabela 4.4). Conforme o resultado é possível classificar em ordem decrescente de *ratio*: Salesópolis 2014 ($7,53 \pm 0,25$) > Natividade 2014 e 2015 ($5,48 \pm 0,31$; $4,98 \pm 0,73$) > Salesópolis 2015 ($3,45 \pm 0,27$). Do menor ao maior valor, nota-se que a relação SS/AT é baixa, semelhante à do maracujá (4,04°Brix) (SILVA et al., 2008), por isto o sabor ácido se assemelha em intensidade a este fruto, diferente da goiaba (15,10°Brix) que tem sabor mais doce quando madura (AZZOLINI, JACOMINO; BRON, 2004).

Os teores de ác. ascórbico obtidos nos frutos não diferiram entre os locais e anos de coleta (Tabela 4.4). São descritos elevados teores de vitamina C para o cambuci, determinados acima de 60 mg 100g⁻¹ de ác. ascórbico. Esses valores estão de acordo com Bianchini et al. (2016), que em diferentes acessos de cambuci obteve de 25,62 a 124,51 mg 100 g⁻¹ de ác. ascórbico. A legislação brasileira (BRASIL, 1998a) recomenda para adultos a ingestão diária de 60 mg por dia de ácido ascórbico. A vitamina C atua na fase aquosa como um excelente antioxidante sobre os radicais livres, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos inibindo a peroxidação dos lipídeos (ODIN, 1997). Por isto, é adicionada a muitos produtos alimentares para inibir a formação de metabólitos nitrosos carcinogênicos. Os estudos epidemiológicos também atribuem a essa vitamina um possível papel de proteção no desenvolvimento de tumores nos seres humanos (MORAIS; COLLA, 2006).

Os teores de compostos fenólicos apresentaram diferenças entre os anos de coleta nas duas localidades avaliadas. Além disso, Natividade da Serra-SP apresentou maior quantidade de compostos fenólicos que Salesópolis nos dois anos (Tabela 4.4). As principais classes de compostos fenólicos encontrados em cambuci são proantocianidinas e ácido elágico (taninos

hidrolisáveis, cerca de 58-60 % de fenóis totais) (ABE, LAJOLO, GENOVESE, 2012; GENOVESE et al., 2008). As proantocianidinas, ou taninos condensados, são flavonóis poliéricos de alta massa molecular, não hidrolisáveis são encontrados em cascas de árvores como as acácias e também em folhas. Já os taninos elagitaninos, formados por ácido elágico são não-hidrolisáveis, geralmente são utilizados no tratamento preventivo de câncer e amplamente encontrados em frutas vermelhas, tais como morango, framboesa e amora (KHANBABAEE & VAN REE, 2001).

Por isto, os resultados de taninos acompanham comportamento dos compostos fenólicos, em especial os taninos solúveis, frutos de Natividade da Serra apresentaram maior quantidade de taninos solúveis em 2014 e 2015 (Tabela 4.4).

Os taninos solúveis são responsáveis pela adstringência do fruto, precipitando proteínas presentes na saliva, principalmente a amilase, a qual uma vez ligada aos receptores de sabor causa sensação de secura no palato, característica de alimentos adstringentes (ITTAH, 1993). Desta forma, os elevados teores de taninos nos frutos têm implicação direta sobre a sua palatabilidade e adstringência. Os frutos de *C. phaea* são reconhecidamente fontes de taninos. Essa característica traz implicações para sua pós-colheita, uma vez que tratamentos adicionais podem ser necessários para que os frutos maduros sejam comestíveis (SANCHES, 2013).

A presença de vitaminas e compostos fenólicos - entre eles os taninos - contribuem para os efeitos benéficos dos frutos e valoriza os frutos nativos. Estes compostos podem atuar como antioxidantes primários, reagindo com os radicais livres - dando lugar a um novo radical menos reativo que o radical livre original, ou como antioxidantes secundários, potencializando outros sistemas antioxidantes, como certas enzimas (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2007). O conhecimento de substâncias com atividade antioxidante em cambucis destaca-se tanto pela possibilidade de ter aproveitamento como alimentos funcionais, quanto pelo fornecimento de compostos que se enquadram como nutracêuticos (ANDRADE-WARTHA, 2007).

No método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), este radical orgânico na presença de um antioxidante, à medida que é capturado produz um decréscimo da absorbância a 515 nm (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). O resultado considera o EC₅₀ que é a quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50 % a quantidade inicial do radical (SÁNCHEZ-MORENO et al., 1998). A atividade antioxidante avaliada pelo método de DPPH variou entre 1132,83 e 1163,55 g fruta g⁻¹ DPPH nos frutos cultivados em Natividade em 2015 e Salesópolis em 2014, respectivamente. Comparada com outras frutíferas, entre elas algumas nativas brasileiras mensuradas por este mesmo método, o cambuci possui menor atividade antioxidante

que acerola ($670,1 \pm 64,5$), camu-camu ($477,7 \pm 1,2$) e maior que umbu ($7073,6 \pm 218,1$), mangaba (3385 ± 349), uvaia ($3246,5 \pm 392,3$), jabuticaba ($1472,1 \pm 16,9$) (RUFINO, 2008).

No método ORAC (Capacidade de Absorção do Radical Oxigênio) os radicais atacam a molécula de fluoresceína oxidada que já não emite fluorescência, na presença dos antioxidantes, a reação do radical com a fluoresceína faz com que esta mantenha a mesma emissão de fluorescência. Dessa forma, pode-se comparar o decréscimo da fluorescência produzida na presença e na ausência de um antioxidante (OU et al., 2001). Nos resultados obtidos pelo método ORAC, a atividade antioxidante do cambuci variou entre 30,62 e 54,54 μmol de trolox g^{-1} fruta. A atividade antioxidante semelhante foi encontrada em buritis cultivados no bioma Amazônia, valores próximos a 42 e 50 μmol de trolox/g fruta, o mesmo autor obteve para mesma fruta valores acima de 73 μmol de trolox g^{-1} fruta cultivado no bioma Cerrado, o que demonstra quão variável é a atividade antioxidante em função do ambiente

Entre os métodos utilizados, o ORAC pode ser considerado um método mais exato, uma vez que utiliza uma fonte de radicais biologicamente relevantes (peroxil) e permite a medição da capacidade antioxidante total através da combinação da capacidade antioxidante de frações hidrofílicas e lipofílicas (DUDONNÉ et al., 2009; PRIOR et al., 2003). A variabilidade dos resultados descritos pode também ser justificado pela influência da região e condições de cultivo.

Os resultados obtidos para as análises de pectinas totais indicaram maiores teores para os frutos colhidos em Salesópolis. Ademais, os frutos provenientes da colheita de 2014 apresentaram maiores teores de pectinas totais para ambas as localidades de colheita. As pectinas interferem na textura do fruto e nos custos de processamento industrial, devido à menor necessidade de adição de pectina comercial e redução do tempo de fabricação de doces (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Para os teores de pectinas solúveis, não houve diferença entre os frutos colhidos nas duas localidades, sendo constatada diferença apenas para a colheita realizada em Natividade da Serra. A relação entre pectinas solúveis/pectinas totais tem relevância para informar a respeito da textura dos frutos. O amadurecimento dos frutos é acompanhado de redução da textura dos frutos, ou seja, há um amolecimento natural dos mesmos.

Geralmente a pectina está relacionada a perda de firmeza da polpa, pois através das atividades de enzimas hidrolíticas, como a poligalacturonase e pectinametilesterase, promovem intensa solubilização das pectinas constituintes da parede celular, resultando no amolecimento

dos frutos (SILVA et al., 2009). No entanto, os resultados não exprimem esta relação com o comportamento da firmeza dos frutos (Tabela 4.3).

4.3.2.3. Composição centesimal

Os conteúdos de umidade dos frutos não diferiram entre os locais de colheita e foram inferiores a 9 % (Tabela 4.5). Os valores encontrados, referem-se a base seca, diferente da umidade do fruto apresentado na tabela 4.3, que são superiores a 80 %.

Tabela 4.5 – Valores médios da composição centesimal de frutos de cambucizeiros em termos de matéria seca, coletados em duas localidades (Salesópolis – SP e Natividade da Serra – SP) na colheita realizada no ano de 2014, expressos em média $\pm$ desvio padrão

Composição centesimal	Salesópolis	Natividade da Serra
Umidade (%)	9,04 $\pm$ 2,08 ^{ns}	8,68 $\pm$ 0,49 ^{ns}
Lipídeos (%)	3,42 $\pm$ 0,40 ^{ns}	2,89 $\pm$ 1,10 ^{ns}
Proteínas (%)	0,96 $\pm$ 0,13 b	1,17 $\pm$ 0,13 a
Cinzas (%)	3,08 $\pm$ 0,72 a	2,20 $\pm$ 0,33 b
Fibras insolúveis (%)	35,55 $\pm$ 3,43 a	30,68 $\pm$ 0,56 b
Fibras solúveis (%)	4,49 $\pm$ 0,64 b	6,51 $\pm$ 1,15 a

^{ns} = não significativo. Letras minúsculas entre localidades não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os frutos apresentaram alto conteúdo de lipídeos (> 2,8 %) e também não diferiram entre os locais de amostragem. Estes valores estão de acordo com encontrado por Vallilo et al. (2005) (1,53 $\pm$ 0,09) e Sanches (2013) (1,61 $\pm$ 0,02 a 4,60 $\pm$ 0,10). O conteúdo de proteínas foi maior nos frutos de Natividade da Serra- SP (1,17 % $\pm$ 0,13), mas os valores observados, também concordam com resultados encontrados na literatura (0,44 a 2,95 %) para cambucis (VALLILO et al., 2005; SANCHES, 2013). A grande maioria dos vegetais e frutos possui elevado teor de umidade, baixo de proteína e gordura, sendo o conteúdo proteico inferior a 3,5 % e lipídio inferior a 0,5 % (POTTER, 1968).

O conteúdo de cinzas varia de 0,4 % a 2,1 % em frutas frescas e representam os minerais contidos nos alimentos que podem estar em grandes quantidades como o K⁺, Na⁺ e Ca⁺ e pequenas, como o ferro, Mn e Zn (CECCHI, 2003). Os teores de cinzas, ou seja, o conteúdo total de minerais presentes nos frutos foi maior para frutos colhidos em Salesópolis-

SP (Tabela 4.5). Os valores de cinzas avaliados foram menores que os identificados na jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) (LIMA et al., 2006) e maiores aos encontrados na guabiroba (*Campomanesia sp*) (ANDRADE et al., 2012).

Em relação aos teores de fibra, insolúvel e solúvel, houve diferenças entre as localidades das quais os frutos foram colhidos. Vale ressaltar que independente da variação nos locais, os altos teores de fibras nos cambucis reiteram as informações da sua importância como um alimento, tendo uma grande contribuição na dieta alimentar saudável.

Atualmente, a fibra é o ingrediente mais utilizado na elaboração de alimentos funcionais, representando mais de 50 % do total de ingredientes do mercado (SAURA-CALIXTO, 2006). A fibra insolúvel é escassamente fermentada e confere o efeito laxante e regulador intestinal, enquanto que a fibra solúvel é fermentada em alta proporção e suas propriedades estão relacionadas com a diminuição do colesterol e glicose no sangue e desenvolvimento da flora intestinal (SAURA-CALIXTO, 1995). As frutas e hortaliças contêm fibra de maior qualidade, com uma composição mais equilibrada incluindo altos percentuais de fração solúvel (SAURA-CALIXTO et al., 1995). Comparado com a casca trigo o cambuci apresenta valores de fibras insolúveis e solúveis próximos, sendo que o trigo apresenta 3 % de fibras solúveis e 41,6 % de fibras insolúveis (SAURA-CALIXTO, 2006).

4.3.2.4. Composição mineral

Em relação aos minerais, diferenças foram observadas entre os teores de macro e micronutrientes dos frutos tanto em relação aos locais de colheita, bem como em função das duas colheitas realizadas (Tabela 4.6).

Dentre os macronutrientes, o potássio destacou-se dos demais em relação aos teores nos frutos e é superior ao observado por Sanches (2013) em avaliação de cambucis em diferentes regiões (8,2 a 11,4 g kg⁻¹). Os valores de potássio e o magnésio foram maiores no ano de 2014 em ambas localidades, podendo estar relacionados à escassez de água, provocada pelo baixo índice pluviométrico no ano de 2015, já que os plantios não recebem irrigação. A concentração de cálcio foi semelhante ao obtido por Vallilo (2005) em cambuci (0,61 g Kg⁻¹).

Os resultados para micronutrientes evidenciaram que os teores de cobre nos frutos de *C. phaea* (Tabela 4.6) está de acordo com os valores permitidos na legislação (10 mg kg⁻¹) para minerais potencialmente tóxicos na alimentação (BRASIL, 1998b). Na análise da composição mineral ficaram destacadas as concentrações elevadas de ferro, manganês e zinco (Tabela 4.6),

em que nos dois anos consecutivos os frutos de Salesópolis-SP apresentaram valores superiores aos de Natividade da Serra – SP. Os fatores relacionados ao acúmulo desses nutrientes devem ser explorados, uma vez que constitui uma importante característica da espécie e que possui potencial para ser explorado na indústria alimentícia. Sozzi (2007) relata que a deficiência de zinco e ferro causa coloração anormal nos frutos, entre outros efeitos variáveis com a espécie. Os valores avaliados estão próximos aos de outras frutíferas tropicais, goiaba (Fe = 15 e Zn = 13,3 mg Kg⁻¹), e maracujá (Fe = 50 e Zn = 21,4 mg Kg⁻¹) (HIROCE et al., 1977).

Considerando que esses compostos se encontram em equilíbrio dinâmico permanente nos tecidos animais e vegetais e que representam cerca de 4 % dos tecidos de um indivíduo adulto (CHITARRA; CHITARRA, 2005), o consumo de cambuci pode contribuir na nutrição humana, se utilizado na alimentação.

Tabela 4.6 – Valores médios dos teores de macronutrientes (P, K, Ca, Mg e S) em g kg⁻¹ e de micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn) em mg kg⁻¹ de frutos de cambucizeiros coletados em duas localidades (Salesópolis – SP e Natividade da Serra – SP) em dois anos consecutivos (2014 e 2015), em base seca, expressos em média ± desvio padrão

Nutrientes	Salesópolis		Natividade da Serra	
	2014	2015	2104	2015
P	1,05 ± 0,09 Aa	0,59 ± 0,02 Ab	0,83 ± 0,14 Ba	0,62 ± 0,04 Ab
K	15,05 ± 2,21 Aa	9,95 ± 0,77 Ab	13,77 ± 4,05 Aa	10,46 ± 0,44 Ab
Ca	0,77 ± 0,07 Aa	0,73 ± 0,10 Aa	0,73 ± 0,08 Aa	0,58 ± 0,08 Bb
Mg	1,20 ± 0,20 Aa	0,83 ± 0,12 Ab	1,57 ± 0,72 Aa	0,83 ± 0,06 Ab
S	0,56 ± 0,03 Aa	0,49 ± 0,04 Ab	0,42 ± 0,07 Bb	0,51 ± 0,02 Aa
B	5,54 ± 0,69 Aa	3,68 ± 0,50 Bb	5,13 ± 0,23 Aa	4,83 ± 1,02 Aa
Cu	7,50 ± 0,50 Ba	6,30 ± 1,31 Ba	8,67 ± 1,44 Aa	8,17 ± 0,58 Aa
Fe	34,33 ± 2,57 Ab	50,83 ± 1,76 Aa	12,83 ± 2,36 Bb	29,83 ± 4,19 Ba
Mn	8,83 ± 0,76 Aa	6,33 ± 0,58 Ab	4,50 ± 0,50 Ba	4,00 ± 1,80 Ba
Zn	15,33 ± 0,76 Aa	9,67 ± 1,76 Ab	12,17 ± 0,58 Ba	7,17 ± 0,29 Bb

Letras minúsculas entre colheitas em um mesmo local e letras maiúsculas entre localidades em uma mesma época de colheita não diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

4.3.2.5. Perfil de compostos voláteis

Foram identificados 29 compostos voláteis em cambucis sendo cada um deles contribuintes do aroma através de notas odoríferas e limiares de odor variados (Tabela 4.7). Destes compostos, 18 possuem como precursores terpenos que derivam diretamente de carboidratos (PÉREZ; SANZ, 2008). Os demais precursores dos compostos detectados foram: cicloalcano (1), aldeído (1), ácido graxo (1), éster (5), éter cíclico terpênico (1) e álcool terpênico (2) (Tabela 4.7).

Tabela 4.7: Descrição dos compostos voláteis emitidos por frutos de cambucizeiro, coletados em duas localidades (Salesópolis – SP e Natividade da Serra – SP) em 2014 e 2015

Sigla	Composto Volátil/ CAS* ¹	Estrutura	Notas de Aroma* ²	Classe
C1	1,1'-biciclobutila 7051-52-7		ND	Cicloalcano
C2	α -selineno 473-13-2		Frutado (laranja), pimenta	Terpeno
C3	4,11-selinadieno 1000192-43-5		ND	Terpeno
C4	2-Propenal 107-02-8		Frutado (amêndoa, cereja)	Aldeído
C5	Aloaromadendreno 25246-27-9		Amadeirado	Terpeno
C6	Ácido butanóico 2639-63-6		Manteiga, queijo	Ácido graxo
C7	cis-muurola-3,5-dieno 1000365-95-4		ND	Terpeno
C8	γ -elemene 490377		ND	Terpeno
C9	d-cadineno 483-76-1		Herbáceo	Terpeno
C10	δ -selineno 28624-23-9		ND	Terpeno
C11	D-limoneno 5989-27-5		Frutado (limão), hortelã	Terpeno

C12	Etil(metiltio)acetato 4455-13-4		Frutado	Éster
C13	Etil (Z)-4-decenoato 7367-84-2		ND	Éster
C14	Etil hexanoato 123-66-0		Frutado (abacaxi, banana)	Éster
C15	Etil octanoato 106-32-1		Frutado e floral (damasco)	Éster
C16	Etil trans-4-decenoato 76649-16-6		Frutas verdes	Éster
C17	Eucaliptol 470-82-6		Canforado	Éter cíclico terpênico
C18	Linalool 78-70-6		Floral, cítrico, lavanda	álcool terpênico
C19	Terpinen-4-ol 562-74-3		<i>Pinus</i> , noz-moscada	Terpeno
C20	Viridifloreno 21747-46-6		ND	Terpeno
C21	α -cubebeno 17699-14-8		Herbáceo, cera	Terpeno
C22	α -humuleno 6753-98-6		Amadeirado	Terpeno
C23	α -terpineol 98-55-5		Óleo, anis, hortelã	Terpeno
C24	α -felandreno 99-83-2		Hortelã, especiarias, herbáceo	Terpeno
C25	β -cubebeno 13744-15-5		Cítrico, frutado	Terpeno
C26	β -selineno 17066-67-0		Herbáceo	Terpeno
C27	β -terpineno 99-84-3		Frutado (limão)	Terpeno
C28	β -thujeno 28634-89-1		ND	Terpeno

C29	γ -muuroleno 30021-74-0		Erva, amadeirado, especiarias	Terpeno
------------	-----------------------------------	---	----------------------------------	---------

*1: Número de registro único no banco de dados do Chemical Abstracts Service, uma divisão da Chemical American Society.
 *2: Referências: Buttery e Ling (1993) e Schwab, Davidovich-Rikanati e Lewinsohn, 2008. The Good Scents Company, 2013.
 Fonte: <http://www.thegoodscentscompany.com/>; <http://www.flavornet.org/flavornet.html>; <http://www.pherobase.com/>. ND: Não Determinado

Os terpenóides compõem uma importante família de metabólitos secundários, aproximadamente 40.000 compostos, a maioria, não voláteis, estão envolvidos em diferentes processos das plantas (DEFILIPPI et al., 2009). Os monoterpenos e sesquiterpenos compõem o grupo abundante de compostos aromáticos em frutos, sendo, em alguns casos, os compostos chaves para determinar a característica do aroma (DEFILIPPI et al., 2009). Um importante exemplo de terpenóides como composto aromático é o limoneno, abundante composto encontrado em laranjas (OBENLAND et al., 2008), presente também em acerolas (PINO & MARBOT, 2001). Em goiabas, que pertencem também a família mirtácea, os principais compostos do aroma são provenientes de terpenos: (E)- β -caryophyllene, α -terpineol, α -selinene, β -selineno, d-cadineno, 4,11-selinadiene e α -copaeno (PINO et al., 2002).

Os resultados da análise por SPME e GC-MS apresentaram diferentes composições e/ou abundâncias de voláteis entre os frutos coletados nas duas localidades, nos diferentes anos de avaliação (Figura 4.5 e 4.6).

No ano de 2014 foram identificados 25 compostos voláteis, mas as localidades não diferiram entre si quanto a abundância ou presença de metabólitos. Embora na ACP (Figura 4.5 A), os locais de cultivo projetaram-se em regiões distintas no plano, não houve similaridade entre as amostras de Natividade da Serra e por isto não se agruparam na AAH.

Na análise de componentes principais, o primeiro componente principal (CP1), que explicou 48,90 % do total da variabilidade, separou as amostras de Salesópolis-SP na região negativa, sendo que os principais metabólitos envolvidos nessa diferenciação foram cis-muurola-3,5-diene (C7) e α -humuleno (C22). Para as amostras de Natividade da Serra, observou-se uma maior variabilidade, abrangendo as regiões do plano negativa e positiva (Figura 4.5 A).

O segundo componente principal (CP2) explicou 28,10 % do total da variabilidade, separando as amostras do grupo Salesópolis na região negativa pela presença do d-cadineno (C9) e as amostras de Natividade da Serra na região positiva, principalmente pela presença de elevados níveis com os compostos γ -elemeno (C8) e aloaromadendreno (C5).

Esta diferença pode ser observada no dendrograma obtido pela AAH e Heatmap (Figura 4.5 B) nos grupos identificados como 4 e 6. As análises multivariadas indicam que todas as amostras eram semelhantes entre si, pois não se detecta segregação entre os grupos de amostras. A discrepância da amostra N1 (Natividade da Serra), possivelmente comprometeu a diferenciação entre os grupos, inclusive na determinação dos compostos voláteis característicos do aroma do cambuci.

Figura 4.5 - Análises multivariadas de compostos voláteis emitidos por frutos de cambucizeiro, coletados em duas localidades (Salesópolis – SP e Natividade da Serra – SP) no ano de 2014. A) Análise de Componentes Principais (Biplot) e B) Análise de Agrupamento Hierárquico e Heatmap. Em B, as cores vermelha e azul indicam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente. Cada símbolo é uma amostra independente. NA = Natividade e SA = Salesópolis. C1 = 1,1'-biciclobutila; C2 = α -Selineno; C3 = 4,11-selinadieno; C4 = 2-Propenal; C5 = Aloaromadendreno; C6 = Ácido butanóico; C7 = Cis-muuroala-3,5-dieno; C8 = γ -elemeno; C9 = d-cadineno; C10 = δ -selineno; C12 = Etil(metil)acetato; C13 = Etil (Z)-4-decenoato; C14 = Etil hexanoato; C15 = Etil octanoato; C16 = Etil trans-4-decenoato; C17 = Eucaliptol; C18 = Linalool; C19 = Terpinen-4-ol; C20 = Viridifloreno; C21 = α -cubebeno; C22 = α -humuleno; C25 = β -cubebeno; C26 = β -selineno; C28 = β -thujeno; C29 = γ -muuroleno

Em 2015 a quantidade de compostos foi menor que no ano anterior, 20 no total, e os frutos dos diferentes locais geraram perfis distintos de compostos entre as regiões, sendo possível agrupá-los separadamente. As principais diferenças entre os locais ocorreram devido à maior abundância dos compostos projetados na extremidade negativa para Natividade da Serra na CP1 (Figura 4.6 A), responsável por explicar 53,40 % do total da variabilidade, comprovado pela AAH e pela construção do Heatmap (Figura 4.6 B).

Os frutos provenientes de Natividade da Serra agruparam-se separadamente de Salesópolis-SP, porque os níveis dos compostos aloaromadendreno, δ -selineno, α -felandreno, etil octanoato, 2-Propenal, ácido butanoico, etil(metil)acetato, α -selineno, viridifloreno, linalool, α -cubebeno nos frutos de Natividade da Serra foram superiores (Figura 4.6 B, grupos de compostos 2 e 4). Estes compostos são oriundos de terpenos ou ésteres (Tabela 4.7) que contribuem com notas aromáticas florais e frutais relacionadas frutos maduros e frescos (GRANELL; RAMBLAa, 2013).

O percentual de 33,00 % do total da variabilidade foi explicado pelo segundo componente principal (CP2), permitindo a separação das amostras de Natividade da Serra na região negativa e um agrupamento não homogêneo nas amostras de Salesópolis (Figura 4.6 A).

Os resultados obtidos quanto ao perfil de voláteis nos frutos de cambuci evidenciam diferenças entre as colheitas realizadas nos locais distintos nos anos subsequentes. Estas variações provavelmente estão correlacionadas a fatores extrínsecos aos frutos, como por exemplo, a influência das características edafoclimáticas dos locais e anos de cultivo. Em relação aos frutos, o grau de maturação, o armazenamento e danos causados na colheita podem influenciar na produção de voláteis e consequentemente causar diferenças substanciais entre amostras coletadas em um mesmo local (ARVANITOYANNIS; MAVROMATIS, 2009).

Figura 4.6- Análises multivariadas de compostos voláteis emitidos por frutos de cambucizeiro, coletados em duas localidades (Salesópolis – SP e Natividade da Serra – SP) no ano de 2015. A) Análise de Componentes Principais (Biplot) e B) Análise de Agrupamento Hierárquico e Heatmap. Em B, as cores vermelha e azul indicam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente. Cada símbolo é uma amostra independente. NA = Natividade e SA = Salesópolis. C1 = 1,1'-biciclobutila; C2 = α -Selineno; C4 = 2-Propenal; C5 = Aloaromadendreno; C6 = Ácido butanóico; C8 = γ -elemene; C10 = δ -selineno; C11 = D-limoneno; C12 = Etil(metil)acetato; C14 = Etil hexanoato; C15 = Etil octanoato; C17 = Eucaliptol; C18 = Linalool; C19 = Terpinen-4-ol; C20 = Viridifloreno; C21 = α -cubebeno; C22 = α -humuleno; C23 = α -terpineol; C24 = α -felandreno; C26 = α -selineno; C27 = β -terpineno.

4.4. Conclusão

A diferença entre safras dos cambucis foi a principal responsável pela variação das características físicas, morfológicas, químicas e minerais.

O cambuci pode ser considerado um alimento funcional e seus compostos aproveitados como nutracêuticos, pois o conteúdo de ácido ascórbico, compostos fenólicos, entre eles os taninos, contribuem para efeitos benéficos para saúde, principalmente por sua ação antioxidante. Além de representar uma importante fonte de fibra e minerais.

O perfil aromático do cambuci foi marcado pela presença de terpenóides, com notas aromáticas que variam entre frutal, herbácea, canforado e amadeirado. Os resultados sugerem que a composição de voláteis é influenciada pela variação anual de cultivo e a sazonalidade.

Referências

ABE, L. T., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 92, n. 8, p. 1679–1687, 2012.

ARVANITOYANNIS, I. S.; MAVROMATIS, A. Banana cultivars, cultivation practices, and physicochemical properties. **Critical Reviews Food Science and Nutrition**, Boca Raton. v. 49, n. 2, p.113-135, 2009.

ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; RUFINO, M. S. M. Prospecção da capacidade antioxidante e de compostos com propriedades funcionais em frutas tropicais. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 19. 2006. Cabo Frio. **Anais....** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Fruticultura.

ANDRADE-WARTHA, E. R. S. **Propriedades antioxidantes de clones do pendúculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre lipoperoxidação e enzimas participantes do sistema antioxidante de defesa do organismo animal**. 2007. 111p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciência Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ANDRADE, D. R. M.; HELM, C. V.; MAZZA, C. A.; MAZZA, M. C. M. Caracterização por composição nutricional da guabiroba. In: XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura. **Anais...** 2012.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official method of analysis**. 18 ed. Gaithersburg, 2005.

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. **Official methods and recommended practices**, 5.ed. Champaign, 2003.

ÁVILA, J. M. M., TORALLES, R.P., CANTILLANO, R. F. F., PERALBA, M. C. R., PIZZOLATO, T. M. Influência do sistema de produção e do armazenamento refrigerado nas características físico-químicas e no desenvolvimento de compostos voláteis em morangos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 12, p. 2265-2271, 2012.

AZZOLINI, M.; JACOMINO A. P.; BRON I. U. Indices to evaluate postharvest quality of guavas under different maturation stages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 139-145, 2004.

BIANCHINI, F. G.; BALBI, R. V.; PIO, R.; SILVA, D. F.; PASQUAL, M.; VILAS BOAS, E. V. B. Caracterização morfológica e química de frutos de cambucizeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 1, p. 10-18, 2016.

BITTER, T.; MUIR, H.M. A modified uronic acid carbazole reaction. **Analytical Biochemistry**, v.34, p.330-334, 1962.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, Londres, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n. 33, de 13 de janeiro de 1998. Tabelas de ingestão diária recomendada (IDR). **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 jan. 1998a. Seção 1, parte 1.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria n. 685, de 27 de agosto de 1995. Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimento. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 set.1998b. Seção 1, n. 183E, p. 3.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, 2003. 207p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785p

CREDIDIO, E. V. **Abacate: efeitos funcionais na saúde**. Ed. Ottoni, Itu, 2008. 238 p.

DEFILIPPI, B. G.; MANRÍQUEZ, D.; LUENGWILAI, K.; GONZÁLEZ-AGÜERO, M., Aroma volatiles: biosynthesis and mechanisms of modulation during fruit ripening. In: JEAN-CLAUDE, K.; MICHEL, D. (Eds.). **Advances in Botanical Research**. Londres: Academic Press, 2009. p. 1–37.

- DIAS, A. B.; CARVALHO, M. A. P. de; DANTAS, A. C. V. L.; FONSECA, V. J. Variabilidade e caracterização de frutos de pitangueiras em municípios baianos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, p.1169-1177, 2011.
- DIN, A. P. Vitamins as antimutagens: advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 386, n. 1, p. 39-67, 1997.
- DONADIO, L.C.; CRUZ, M.P. da; BISOGNINI, H.L. **Cambuci**. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 22p.
- DONADO-PESTANA, C. M., BELCHIOR, T., FESTUCCIA, W. T., & GENOVESE, M. I.. Phenolic compounds from cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg) fruit attenuate glucose intolerance and adipose tissue inflammation induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, Toronto, v. 69, p. 170-178, 2015.
- DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBER, P. A., SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v.8, n.3, p.350-356, 1956.
- DUDONNÉ, S.; VITRAC, X.; COUTIÈRE, P.; WOILLEZ, M.; MÉRILLON J.M. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 1768-1774, 2009.
- FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. Colheita e armazenamento. In: FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura: fundamentos e práticas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. p.114-120.
- GENOVESE, M. I., PINTO, M. D. S., GONÇALVES, A.; LAJOLO, F. M. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, Tóquio, v. 14, n. 3, p. 207–214, 2008.
- GÓMEZ, M. L. P. A.; LAJOLO, F.; CORDENUNSI, B. Evolution of soluble sugars during ripening of papaya fruit and its relation to sweet taste. **Journal of food science**, v. 67, n. 1, p. 442-447, 2002.
- GRANELL A., RAMBLA J. L. Biosynthesis of volatile compounds. In: SEYMOUR G., TUCKER G. A., POOLE M., GIOVANNONI J. J. **The Molecular Biology and Biochemistry of Fruit Ripening**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2013. p. 135–161.
- HAIR Jr., J.F. et al. **Análise Multivariada de Dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005.
- HIROCE, R. IROCE, R.; BATAGLIA, O. C.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. Composição de frutos tropicais na colheita. **Bragantia**, Campinas, v. 36, p. 155-164, 1977.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de micro-organismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, v. 9, n. 1, p.23-30, 2001. [online] Disponível em: <<http://www.signuseditora.com.br/ba/pdf/09/09%20-%20Higiene.pdf>>.

ITTAH, Y. Sugar content changes in persimmon fruits (*Diospyros kaki* L.) during artificial ripening with CO₂: a possible connection to de astringency mechanisms. **Food Chemistry**, Barking, v. 48, n. 1, p. 25-29, 1993

JOHNSON, C. M; ULRICH, A. Analytical methods. In.: SARRUGE, J. R; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ. 1974. 56p.

KHANBABAEE, K., VAN REE, T. Tannins: classification and definition. **Natural Product Reports Articles**, v.18, p.641- 649, 2001.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenoides totais em pitanga. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 3, p. 447- 450, 2002.

LIMA, A. J. B. CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; ABREU, C. M. P.; DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 58, n. 4, p. 416-421, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileira: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 252p.

Mc CREADY, R.M.; McCOMB, E.A. Extraction and determination of total pectic materials in fruits. **Analytical Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 1586-1588, 1952.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause alimentos, nutrição e dietoterapia**. 11 ed. São Paulo: Roca, 2005. 1242p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.

MIYAZAWA, T. M. **Compostos voláteis da uvaia (*Eugenia pyriformis cambess*)**. 2009. 97 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

MORAES, F. P., COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**. Goiânia, v. 3, n. 2, p. 109–122, 2006.

O BENLAND, D.; COLLIN, S.; SIEVERT, J.; FJELD, K.; DOCTOR, J.; ARPAIA, M. L. Commercial packing and storage of navel oranges alters aroma volatiles and reduces flavor quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 47, p. 159–167, 2008.

OLIVEIRA, A. L. et al. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v. 99, p. 1-5, 2006a.

ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 1768–1774, 2009.

OU, B.; HAMPSCH- WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of a improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p. 4619-4626, 2001.

PESIS, E., IBÁÑEZ, A. M., PHU, M.L., MITCHAM, E. J., EBELER, S.E., DANDEKAR, A. M. Superficial scald and bitter pit development in cold-stored transgenic apples suppressed for ethylene biosynthesis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 57, n. 7, p. 2786-2792, 2009.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. **Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes: efecto de fibra antioxidante de uva em estatus antioxidante y parâmetros de riesgo cardiovascular em humanos**. 2007. 244 p. Tesis (Doutorado em Ciencia y Tecnología de los Alimentos) Universidade Autônoma de Madri, Madri, 2007.

PÉREZ, A. G.; SANZ, C. Formation of fruit flavor. In: BRÜCKNER, B.; WYLLIE, S. G. **Fruit and Vegetable Flavour - Recent Advances and Future Prospects**. Woodhead Publishing. 2008. cap. 4, p. 41-70.

PINO, J. A.; MARBOT, R. (). Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p. 5880–5882, 2001

PINO, J. A.; MARBOT, R.; VÁZQUEZ, C. Characterization of volatiles in Costa Rican guava (*Psidium friedrichsthalianum* (Berg)) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6023–6026, 2002

POTTER, N. N. **Food Science**. Westport: AVI, 1968. p. 478-517.

PRIOR, R.L.; CAO, G. *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 27, n. 12, p. 1173- 1181, 1999.

PRIOR, R.L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 3273–3279, 2003.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; JIMENEZ, J.P.; CALIXTO, F. D.S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas

pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, Fortaleza, v. 127, p. 1-4, 2007.

RUFINO, M. S. M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. 237 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2008.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; FERNANDES, F. A. N.; BRITO, E. S. Free radical scavenging behavior of tem exotic tropical fruits extracts. **Food Research International**, Toronto, v. 44, p. 2072-2075, 2010.

SANCHES, M. C. R. **Caracterização do fruto de cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg.) e efeito da destanização sobre o potencial funcional *in vitro***. 2013. Dissertação. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 160 p. 2013.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**. New York, v. 8, p. 121-137, 2002.

SANTOS, J. E.; GUIMARAES, A. C.; DIAMENT, J. Consenso brasileiro sobre dislipidemias: detecção, avaliação e tratamento. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 43, n. 4, 1999.

SAURA-CALIXTO, F. Fibra dietética: un nuevo concepto em nutrición. **Dossier Fronteras de La ciência y La tecnologia**, Barcelona, n. 7, p. 29-31, 1995.

SAURA-CALIXTO, F.; GOÑI, I. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. **Food Chemistry**, Barking, v. 94, p. 442-47, 2006

SEVERO, J.; MONTE, F.G; CASARIL, J.; SCHREINERT, R. S.; ZANATTA, O.; ROMBALDI, C.V.; SILVA, J. A. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas e capacidade antioxidante de morango e mirtilo. In: Simpósio Nacional do Morango e III Encontro de Pequenas Frutas Nativas do Mercosul. 4, 2008. **Anais...**, Pelotas, p. 103, 2008.

SEVERO, J.; SANTOS, R. S.; CASARIL, J.; TIECHERI, A.; SILVA, J. A.; ROMBALDI, C. V. Destanização e conservação de frutos de jabolão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 4, p. 976-982, 2010.

SILVA, P. A.; ABREU, C. M. P.; CORREA, A. D.; ASMAR, S. A. Modificações nas atividades da poligalacturonase e pectinametilesterase em morangos armazenados a temperatura ambiente. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 33, p. 1953-1958, 2009.

SILVA, T. V.; RESENDE, E. D.; VIANA, A. P.; PEREIRA, S. M. F.; CARLOS, L. A.; VITORAZI, L. Determinação da escala de coloração da casca e do rendimento em suco do maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, p. 880-884, 2008.

SLOW FOOD BRASIL. **Cambuci**. [online] Disponível em:
<<http://www.slowfoodbrasil.com/arca-do-gosto/produtos-do-brasil/328-cambuci>>.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 15, n.1, p. 71-81, 2002.

SONG, J.; FORNEY, C. F. Flavour volatile production and regulation in fruit. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 88, n. 3, p. 537-550, 2008.

SOZZI, G. O. Tecnología de postcosecha y su influencia sobre la calidad de los frutos. In: SOZZI, G. O. **Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento**. 1. Ed. Buenos Aires: Universidade de Buenos Aires, 2007. p. 669–686.

TAIRA, S. Adstringency in persimmon. **Modern Methods of Plants Analysis**, Berlin, v. 18, p. 97-110, 1996.

VALLILO, M. I.; GARBELOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L. C. A.. Características físicas e químicas dos frutos do cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 241-244, 2005.

VASCO C, R. J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, Barking, v. 111, p. 816-823, 2008.

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

5. PONTO DE COLHEITA E PADRÃO RESPIRATÓRIO DE CAMBUCI

Resumo

A colheita é uma fase importante para a comercialização das frutas. O manejo inadequado na colheita afeta sensivelmente a qualidade dos frutos pela aceleração dos processos de amadurecimento e senescência. A falta de conhecimento sobre a fisiologia e o comportamento pós-colheita do cambuci é um entrave para maior exploração comercial da cultura. O objetivo deste trabalho foi determinar o ponto de colheita e caracterizar a pós-colheita de frutos de cambuci colhidos em diferentes estádios de maturação. As avaliações das propriedades físico-químicas dos frutos evidenciaram que o estágio de maturação definido como E2 correspondeu àquele que representou o melhor ponto de colheita dos frutos de cambuci. Os frutos apresentaram reduzida adstringência, idêntica aos frutos do estágio 3 após a colheita. O conteúdo de ácido ascórbico foi superior e a vida-útil pós-colheita foi aumentada, em pelo menos 2 dias, por terem menor índice de perda por podridões, maior firmeza da polpa e menor perda de massa frutos. Os resultados da avaliação do padrão respiratório dos frutos indicaram que o cambuci pode ser classificado como não-climaterico. A qualidade sensorial dos frutos variou entre os estágios de maturação. A diferença entre os estádios de maturação foi evidenciada pelo perfil dos compostos voláteis ao longo dos dias após a colheita, tanto pela abundância de metabólitos, como pela nota aromática. Frutos mais verdes apresentaram aroma herbáceo, etéreo ou pungente e à medida que amadureceram seu aroma passou a ser frutado e canforado. Os resultados descritos neste trabalho representam uma importante informação para a definição de práticas de colheita e armazenagem dos frutos de cambuci, garantindo assim a expansão da fruticultura.

Palavras-chave: Estádio de maturação; Pós-colheita; Fruto climaterico; Compostos voláteis

Abstract

Harvesting is an important stage in the marketing of fruit. The inadequate harvesting management significantly affects fruit quality by accelerating ripening and senescence processes. The lack of knowledge about the physiology and postharvest behavior of cambuci is a barrier to greater commercial exploitation of the crop. The objective of this work was to determine the maturity stage ideal for harvest and to characterize the postharvest of cambuci fruits harvested at different stages. The evaluations of the fruits physicochemical properties showed that the maturation stage defined as E2 corresponded the best stage for harvesting cambuci fruits. The fruits presented reduced astringency, similar to the fruits of stage 3 after harvest. Ascorbic acid content was higher and postharvest life was increased in at least 2 days, because they had a lower rate of rot loss, higher pulp firmness and lower weight loss. The results of the evaluation of the respiratory pattern of the fruits indicated that the cambuci can be classified as non-climacteric. The sensorial quality of the fruits varied between stages of maturation. The difference between the maturation stages was evidenced by the profile of the volatile compounds along the days after the harvest, both by the abundance of metabolites and by the aromatic note. Greener fruits presented an herbaceous, ethereal or pungent aroma and as they matured their aroma became fruity and camphorated. The results described in this work represent an important information for the definition of harvest and storage of cambucis, thus guaranteeing the expansion of fruit production.

Keywords: Maturation stage; Postharvest; Climacteric fruit; Volatile compounds

5.1. Introdução

O cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] é uma fruta nativa da Mata Atlântica, pertencente à família *Myrtaceae*, ainda cultivada comercialmente em pequena escala no Brasil (LORENZI, 1992). Os frutos apresentam uma polpa carnosa, suculenta, com forte acidez e adstringência, possuindo um aroma intenso e adocicado. Sob o ponto de vista nutricional é um fruto rico em vitaminas e minerais, sendo também, fonte de compostos fenólicos. Os frutos são utilizados na fabricação de aromatizantes, cosméticos e no preparo de sucos, geleias e doces. No entanto, a elevada acidez e adstringência dos frutos reduzem a sua aceitabilidade, limitando o seu consumo *in natura* (MATHIAS; ANDRADE, 2011).

Os conhecimentos agronômicos a respeito do cambuci são escassos e apesar da sua importância e potencial de utilização, pouco tem-se estudado sobre o cultivo em larga escala da espécie, bem como em relação à conservação e comercialização dos frutos. Há carência de estudos sobre a fisiologia do fruto e sua pós-colheita. A colheita do cambuci ocorre após a queda natural dos frutos, contudo sua casca fina e a perda da firmeza podem influenciar na sua qualidade final (KAWASAKI; LANDRUM, 1997). O choque provocado pela queda dos frutos e o posterior contato com o solo acarretam em perda da qualidade, redução no período de conservação e de comercialização devido aos danos mecânicos, contaminação por micro-organismos e desidratação do fruto.

Alguns procedimentos são alternativos para evitar o contato direto dos frutos de cambuci com o solo e reduzir o impacto da queda, tais como a cobertura da área de projeção da copa do cambucizeiro com palhas ou materiais similares, bem como a adaptação de estruturas como guarda-chuvas invertidos, construídas de tela (DONADIO, 2012). No entanto, a coleta dos frutos diretamente do solo, é a prática mais comum entre os produtores.

A colheita é uma fase crítica que pode afetar sensivelmente a qualidade dos frutos pela aceleração dos processos de amadurecimento e senescência, implicando em redução do período de comercialização (KLUGE et al., 2002). O estágio de maturação no qual os frutos são colhidos reflete diretamente no seu potencial de conservação e na sua qualidade quando oferecidos ao consumidor (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A colheita antes da maturidade fisiológica ocasiona prejuízo ao processo de amadurecimento, causando diminuição da massa fresca, maior sensibilidade a distúrbios fisiológicos e efeito negativo sobre a sua qualidade, como ausência de firmeza ideal da fruta madura, alteração do sabor, desidratação, alto conteúdo de ácidos e amido e baixo conteúdo de açúcares (AZZOLINI et al., 2004). Por sua vez, a colheita de frutos sobremaduros implica em

redução de sua vida útil, dificultando o seu manuseio e o transporte pelo fato de ser excessivamente macia e mais susceptível aos danos mecânicos e ao ataque de patógenos, causando perdas quantitativas e qualitativas (KADER, 1999).

A falta de conhecimento sobre a fisiologia e o comportamento pós-colheita do cambuci é um entrave para maior exploração comercial da cultura. A compreensão do desenvolvimento dos frutos é essencial para a definição de técnicas de colheita, de manuseio e conservação pós-colheita, bem como para a definição de índices de maturação e de qualidade (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Nesse contexto, estudos da fisiologia pós-colheita do cambuci através de sua atividade respiratória, produção de etileno e mudanças físicas e químicas durante o desenvolvimento dos frutos são critérios importantes para determinar o momento ideal da colheita (KLUGE, 2002). Além disso, o estudo em relação ao padrão respiratório do cambuci pode servir de base para pesquisas futuras na área. Como forma de diagnóstico, um fruto climatérico pode diferenciar-se de um não-climatérico por sua resposta na respiração e produção de etileno frente a aplicação de etileno e seus análogos, como propileno (SOZZI, 2007).

A aplicação exógena de etileno em frutos climatéricos antecipa o seu amadurecimento e, conseqüentemente a senescência, provocando uma produção auto catalítica deste hormônio. Em frutos não climatéricos, a aplicação de etileno desencadeia aumento com redução imediata na atividade respiratória, o que não resulta em amadurecimento. Por outro lado, a aplicação exógena do regulador de crescimento etileno em frutos é a elevação da atividade respiratória (SOZZI, 2007). Logo a definição do padrão respiratório de cambuci tem uma importância do ponto de vista prático, uma vez que influencia diretamente na definição do ponto de colheita dos frutos, possibilitando o manejo da colheita e extensão vida útil do fruto *in natura*.

O objetivo deste trabalho foi determinar o ponto de colheita e caracterizar o padrão respiratório durante os pós-colheita de cambucis colhidos em diferentes estádios de maturação.

5.2. Material e Métodos

5.2.1. Ponto de colheita de cambucis

Os cambucis [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] foram colhidos em maio de 2015, em um pomar comercial no município Natividade da Serra – SP (23°31' S e 45°27' W e

712 m de altitude), em três estádios de maturação, definidos a partir da coloração da casca e arredondamento da região equatorial do fruto, de acordo com a Figura 5.1.

Figura 5.1 – Estádios de maturação de cambucis baseado na coloração da casca e arredondamento da região equatorial do fruto. (a) E1 - ‘de vez’, coloração verde, região equatorial pouco arredondada; (b) E2 - maduro colhido na planta, coloração verde-amarelada, região equatorial levemente arredondada e (c) E3 - maduro coletado no solo, coloração verde-amarelada, região equatorial arredondada

Após a colheita, os frutos foram acondicionados em caixas de papelão forradas com plástico “bolha” e transportados em carro com ar condicionado ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) para o Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Hortícolas, do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP em Piracicaba, SP, a 320 km de distância de Natividade da Serra.

No laboratório, o lote foi homogeneizado a partir da retirada de frutos com podridões, danos e em diferentes estádios de maturação. O lote de cada estágio foi identificado e armazenado em câmaras de refrigeração a $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a $85 \pm 5\%$ UR, por até 6 dias ou até a senescência dos frutos.

Os frutos foram avaliados diariamente quanto incidência de doenças, atividade respiratória e produção de etileno, e a cada 2 dias quanto à firmeza da polpa, coloração da casca, teores de sólidos solúveis, acidez titulável e ácido ascórbico, perda de massa fresca. Parte das amostras foi congelada em N_2 líquido e preservada em ultra freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para análises de açúcares solúveis totais, clorofilas totais, compostos fenólicos totais, taninos solúveis e totais, ácidos orgânicos e perfil dos compostos voláteis realizadas no Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP em São Paulo.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado num esquema fatorial 3×4 , 3 estádios de maturação combinado com 4 dias de avaliação (dias 0, 2, 4 e 6) com 4

repetições constituídas de 5 frutos cada; e com 3 repetições nas análises que foram realizadas com as amostras congeladas.

5.2.2. Padrão respiratório do cambuci

Os cambucis [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] foram colhidos em junho de 2015, em um pomar comercial no município Salesópolis – SP (23°31' S e 45°50' W e 812 m de altitude), nos estádios de maturação: estádio 1(E1): ‘de vez’, coloração verde, região equatorial pouco arredondada; estádio 2 (E2) maduro colhido na planta, coloração verde-amarelada, região equatorial levemente arredondada; estádio 3 (E3) maduro coletado no solo (colheita realizada pelo produtor), coloração verde-amarelada, região equatorial arredondada, conforme descrito no item 5.2.1.

Após a colheita, os frutos foram acondicionados em caixas de papelão forradas com plástico “bolha” e transportados em carro com ar condicionado ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) para o Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Hortícolas, do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP em Piracicaba, SP, a 250 km de distância de Salesópolis.

No laboratório o lote foi homogeneizado a partir da retirada de frutos com podridões, ferimentos e em diferentes estádios de maturação. Em seguida o lote contendo os três respectivos estádios, E1, E2 e E3, foi dividido em dois grupos: o controle e o tratado com 500 ppm de etileno.

Para a aplicação do etileno os frutos foram colocados em câmaras hermeticamente fechadas de $0,186\text{ m}^3$ com uma abertura específica por onde foi introduzido um frasco contendo C_2H_4 (etileno), após aberto para liberação do gás, o frasco foi mantido dentro da câmara que foi imediatamente vedada. A fim de produzir a concentração desejada de 500 ppm de C_2H_4 foi calculado a quantidade necessária do gás Azetil® (5 % i.a.), considerando a proporção exata entre a concentração do etileno no cilindro e o volume da câmara. Para o preenchimento do frasco com o etileno, este foi submerso em uma caixa com água e em seguida o gás foi veiculado através de um cano conectado ao cilindro, à medida que o gás foi liberado, a água do interior do frasco foi expulsa, garantindo o total preenchimento do volume, o frasco contendo apenas o etileno foi fechado sob a água.

O tratamento teve a duração de 24 horas. Periodicamente uma alíquota da composição gasosa do interior da câmara foi coletada para aferição da concentração de 500 ppm de etileno; 12 h após a aplicação inicial, a caixa foi aberta durante 5 min para ventilação, seguindo da

reaplicação do etileno na mesma concentração. O experimento foi conduzido em temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ e a $85 \pm 5\%$ UR por até 9 dias após o tratamento ou senescência dos frutos.

Os frutos foram avaliados quanto a atividade respiratória e produção de etileno no dia 0 (caracterização do lote, antes do tratamento), dia 1 (após a abertura da câmara), dia 1' (4 horas após a abertura da câmara) e diariamente até o nono dia. Os frutos foram avaliados quanto à firmeza da polpa, coloração da casca, teores de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação SS/AT nos dias 0, 1, 3, 6 e 9.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado num esquema fatorial 2x5, sendo os fatores constituídos pelo tratamento e controle, combinado com 5 dias de avaliação, com 3 repetições constituídas de 5 frutos cada. Na avaliação da atividade respiratória e produção de etileno foram utilizadas 6 repetições, cada uma constituída por um fruto, avaliado individualmente até a senescência.

5.2.3. Metodologias de análise

Incidência de podridão: avaliada visualmente, pela contagem do número de frutos com presença de lesões com diâmetro maior ou igual a 0,5 cm, com resultados expressos em porcentagem.

Perda de massa fresca: quantificada pela diferença entre a massa inicial e a massa final da amostra, em balança semi-analítica, com resultados expressos em porcentagem, foram utilizados 5 frutos por repetição.

Atividade respiratória e produção de etileno: 4 frutos de cada tratamento foram destinados para esta análise, sendo colocados individualmente em recipientes herméticos de vidro com capacidade de 600 mL e avaliado separadamente para compor 4 repetições. Após 1 h, 1 mL de gás foi coletado dos recipientes através de um septo de silicone, com auxílio de uma seringa (Hamilton, Gastight, EUA). As amostras de gases foram analisadas em cromatógrafo (ThermoFinnigan Trace 2000GC). A respiração e a produção de etileno foram determinadas pela diferença entre a concentração gasosa inicial e final, sendo expressas, respectivamente, em $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ de CO_2 e $\mu\text{L kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ de C_2H_4 .

Firmeza da polpa: determinada com o auxílio de penetrômetro digital, marca Tr-Turoni, Forli-Itália (Sammar – 53200), com ponteira de 8 mm de diâmetro. Os frutos foram partidos longitudinalmente e foram realizadas 2 leituras nas extremidades opostas, sendo elas expressas em Newton (N).

Coloração da casca: determinada com colorímetro (Minolta CR-300, Osaka, Japão) com a seguinte configuração: sistema de cor L* a* b*, iluminante D65 e observador padrão 2°. Foram tomadas duas leituras por fruto nas duas extremidades opostas na face superior.

Teor de sólidos solúveis: determinado com o auxílio do refratômetro digital Atago modelo Palette 101, Tóquio, Japão, utilizando-se polpa homogeneizada e filtrada em gaze. Foram realizadas duas leituras por repetição e os resultados foram expressos em °Brix.

Acidez titulável: determinada por titulometria de neutralização, na qual 10 g de polpa foram homogeneizadas em 90 mL de água destilada. A solução foi titulada com NaOH 1 N, até pH 8,10 em pHmetro digital (Tecnal, Tec 03 MP). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico.

Ácido ascórbico: determinada por titulometria de neutralização, na qual 5 g de polpa foram homogeneizadas em 25 mL de ácido oxálico. A titulação da solução foi feita com 2,6 dicloro-fenol-indofenol de sódio, até a viragem de cor.

Açúcares solúveis totais: foram pesados em triplicata 100 mg de cada amostra em micro tubo de 1,5 mL, adicionou-se 0,5 mL de etanol 80 % e em seguida os micro tubos foram agitados à 450 rpm em termomixer durante 15 min e a 80 °C. Centrifugou-se a 10.000 rpm por 10 minutos, após o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 2 mL, o procedimento foi repetido duas vezes, os sobrenadantes foram combinados e avolumou-se o balão com etanol 80 %. Uma alíquota de 1 mL foi evaporada a vácuo, em sistema “Speedvac” e o volume reconstituído em água. Os teores de açúcares solúveis foram analisados por HPLC-PAD (Dionex, Sunnyvale – California USA), acoplado a detector de pulso amperométrico, utilizando uma coluna CarboPac PA1 (4×250 mm) (Dionex), em corrida isocrática com fluxo de 1 mL min⁻¹ de NaOH 18 mM, durante 25 min (GOMEZ; LAJOLO; CORDENUNSI, 2002). Foi utilizada fase móvel constituída de NaOH 18 mM em fluxo de 1 mL min⁻¹ por 25 min. Padrões de sacarose, frutose e glicose (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foram utilizados para a identificação dos picos e construção de uma curva padrão.

Clorofila total: 0,5 g da polpa congelada foi triturada e adicionada em recipientes protegidos da luminosidade, contendo 5 mL de acetona (80 %). Após serem homogeneizadas com auxílio de bastão de vidro, foram centrifugadas por 5 minutos na velocidade de 3000 rpm e a leitura do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro a 646 nm (clorofila b) e 663 nm (clorofila a). Os resultados foram expressos em mg de clorofila total por g de polpa Lichtenthaler (1987). Os teores de clorofila foram calculados pelas equações (1), (2) e (3).

$$\text{Clorofila a (Ca)} = 12,25 * A_{663} - 2,79 * A_{646} \quad (1)$$

$$\text{Clorofila b (Cb)} = 21,50 * A_{646} - 5,10 * A_{663} \quad (2)$$

$$\text{Clorofila total (Ct)} = 7,15 * A_{663} + 18,71 * A_{646} \quad (3)$$

Onde,

A_{646} = Absorbância a 646 nm

A_{663} = Absorbância a 663 nm

Compostos fenólicos totais: determinado segundo o método espectrofotométrico de Folin Ciocalteau utilizando ácido gálico como padrão, conforme a recomendação de Woisky & Salatino (1998). Os resultados foram expressos em g 100 g⁻¹ de ácido gálico. a) extração: em 0,5 mL da amostra diluída (1 %) foram adicionados 2,5 mL do reagente de Folin Ciocateau (1:10), após a homogeneização e repouso por 3 minutos foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio (4%). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 740 nm após 2 horas de repouso ao abrigo da luz.

Taninos solúveis e totais: determinados por espectrofotometria, utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteau. a) Extração de taninos totais – em 1 g da amostra triturada foi acrescentado 30 mL de HCL 0,56 N. A amostra foi homogeneizada e submetida ao banho-maria à 100 °C durante 30 min. Após atingirem a temperatura ambiente, as amostras foram vertidas em balões volumétricos de 100 mL que continham 6,6 mL de NaOH 2,5 N, o volume foi completado com água destilada. b) Extração de taninos solúveis – 1 g da amostra triturada em 25 mL de MeOH 80 % foram agitados e posteriormente centrifugados por 30 min, a 22 °C, sob 10000 rpm. O processo foi repetido duas vezes e o sobrenadante foi vertido em balão volumétrico de 100 mL, completados com água destilada. A quantificação de taninos solúveis e totais foi realizada em uma alíquota de 1 mL do extrato adicionada a um tubo de ensaio com 7,5 mL de água destilada, 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteau (50 %), após 3 minutos adicionou-se 1 mL de solução de carbonato de sódio supersaturado. A leitura foi realizada após uma hora em espectrofotômetro com absorbância a 725 nm. Como padrão foi utilizado uma solução de ácido gálico (0,1 g L⁻¹) e os resultados expressos em mg 100 g⁻¹ de polpa (TAIRA,1996).

Análise de perfil de compostos voláteis: foram realizadas em 4 replicatas, com método de micro extração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid Phase Microextraction*) (PESIS et al., 2009). A análise empregou uma resina de carboxeno, divinilbenzeno e polidimetilsiloxano de 100 µm de espessura da Supelco® (CAR/DVB/PDMS).

Aproximadamente 3 g de amostra (provenientes de 4 frutos sem casca) acrescidos de 7 mL de solução de NaCl a 30 % em *vials* de 20 mL, com tampa de septo de silicone, foram congelados a -20 °C para análise posterior. O material foi descongelado a 40 °C em banho-maria

com agitação intensa a 600 rpm por barra magnética. Os voláteis foram acumulados por 10 minutos no headspace do vial, onde a fibra de SPME foi introduzida por 50 minutos. Uma vez capturados, os compostos voláteis foram dessorvidos da fibra pela exposição ao calor do injetor do cromatógrafo (200 °C) por 3 min. Foi utilizado o cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 6890 acoplado a um detector seletivo de massas Hewlett-Packard modelo 5973. A coluna cromatográfica empregada foi a Supelcowax 10 (30 m, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura do filme). O programa de temperatura utilizado foi: rampa de temperatura de 2 °C min⁻¹ de 40 °C à 150 °C. A temperatura da interface entre o cromatógrafo e o detector seletivo de massas foi de 230 °C e a ionização foi feita por impacto de elétrons (70 eV) com a fonte de íons mantida a 150 °C. Os espectros de massas obtidos foram comparados com os da biblioteca NIST versão 1.6 e considerados aqueles com índice de similaridade acima de 70 %.

Testes preliminares foram feitos com diferentes tempos de equilíbrio entre a amostra e os voláteis no *headspace* do *vial* (10 ou 15 min), temperaturas de aquecimento (30 ou 40 °C) e tempos de exposição da fibra no *headspace* (20, 30 ou 50 min). O critério utilizado para avaliação desses parâmetros foi baseado na qualidade dos cromatogramas gerados, considerando o número, tamanho e área dos picos. Dessa forma, foi possível determinar as melhores condições para o ensaio. Esta análise foi realizada no Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos do Depto. Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP em São Paulo.

5.2.4. Análise dos dados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e comparados graficamente com auxílio de barras verticais do erro padrão da média ($p < 0,05$).

Os dados do perfil dos compostos voláteis foram analisados utilizando métodos estatísticos multivariados não supervisionados (Análise de Componentes Principais (ACP), Análise de Agrupamento Hierárquico (AAH) visualizada por Heatmaps com a finalidade de avaliar, de forma global, as diferenças entre as localidades onde os frutos de cambuci foram colhidos em relação às composições dos metabólitos voláteis.

5.3. Resultados de Discussão

5.3.1. Ponto de colheita de cambuci

5.3.1.1. Características físicas e químicas dos frutos

A atividade respiratória diferiu significativamente de maneira independente entre os estádios de maturação dos frutos e durante os dias de armazenamento. A produção de etileno variou de acordo com o estágio de maturação dos frutos no decorrer do tempo após a colheita (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Análise de variância (ANOVA) pelo teste F para as análises de frutos de cambucizeiros colhidos em três estágios de maturação (E1, E2 e E3) no decorrer de 6 dias após a colheita.

Variáveis	Causas da Variação			Média Geral	C.V. (%)
	EM	D	EM x D		
----- Valor de F -----					
Atividade respiratória	7,79*	15,59*	0,93 ^{ns}	24,71	28,65
Produção de etileno	1,70 ^{ns}	7,25*	5,48*	2,54	81,15
Cor da casca	23,69*	9,26*	2,02 ^{ns}	105,12	3,11
Cromaticidade	2804,84*	3554,52*	1789,97*	33,12	4,30
Firmeza da polpa	17,34*	21,64*	5,37*	28,07	83,92
Perda de massa	12,71*	36,98*	13,54*	25,86	68,94
Sólidos solúveis	18,70*	21,43*	5,20*	33,95	63,72
Acidez titulável	14,02*	15,38*	4,28*	30,34	87,31
Ratio (SS/AT)	14,30*	15,13*	4,30*	31,48	82,95
Teor de ác. ascórbico	2,64 ^{ns}	5,46*	2,23*	93,76	21,34
Glicose	111587,9*	107967,1*	107831,1*	9,81	1,55
Frutose	20520,80*	20047,01*	19464,83*	12,14	2,84
Sacarose	8104,41*	7939,46*	8609,79*	12,48	4,24
Clorofila	3930,96*	3819,07*	3909,54*	12,71	6,08
Compostos fenólicos	8,33*	10,59*	12,20*	616,64	14,52
Taninos solúveis	9,51*	37,29*	42,53*	67,34	5,67
Podridão	428,65*	163,36*	23,36*	32,90	16,68

^{ns} = não-significativo e * = significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F. EM= estágio de maturação, D = dias após a colheita. Atividade respiratória: mL kg⁻¹h⁻¹ de CO₂; Produção de etileno: µL kg⁻¹h⁻¹ de C₂H₄; Cor da casca: ângulo hue (°h); Cromaticidade da casca: C; Firmeza da polpa: N; Perda de massa: % de perda; Sólidos Solúveis : °Brix; Acidez Titulável: % de ácido cítrico; teor de ác. Ascórbico (mg 100g⁻¹ ác. ascórbico); Glicose, Frutose e Sacarose: g 100g⁻¹; Clorofila: mg g⁻¹ de matéria fresca; Compostos fenólicos: mg 100 g⁻¹; Taninos solúveis: mg 100g⁻¹ ác. gálico; Podridão: %.

Os resultados da atividade respiratória dos frutos de cambuci demonstraram um comportamento similar nos três estádios de maturação avaliados. No início do armazenamento os três estádios apresentaram a mesma taxa respiratória. No primeiro e segundo dia, o estágio 1 se diferenciou do estágio 3, mas o estágio 2, com valores intermediários, não diferiu do E1 e

do E3. No terceiro dia, houve maior atividade respiratória nos frutos colhidos no estágio 3, seguida do estágio 2 e 1 (Figura 5.2 A). Fisiologicamente, entende-se que os estádios escolhidos, realmente representavam fases de maturação distintas, obedecendo a ordem crescente em maturidade: estágio 1 $\leq$ estágio 2 $\leq$ estágio 3.

Figura 5.2 – Atividade respiratória (A) e de produção de etileno (B) de frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação, no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4).

A taxa respiratória do cambuci observada é alta, o que é determinante para sua característica de alta perecibilidade. Em ambos os estádios houve um aumento na atividade respiratória dos frutos um dia após a colheita, seguida de redução no decorrer do tempo de avaliação. O aumento inicial da atividade respiratória dos frutos, pode ser relacionado à necessidade de produção de energia para manutenção dos processos seus de metabólicos, uma vez que este é o principal processo fisiológico que os frutos realizam após a colheita (JACOMINO et al., 2015). O pico respiratório, não representa um pico climatérico, pois de acordo com os resultados de produção de etileno (Figura 5.2 B), não houve formação de um pico associado ao pico respiratório. A produção avaliada no estágio 3 apresentou um alto valor, mas não teve representatividade por corresponder a apenas um único fruto, dos que compunham as quatro repetições que permaneceu em condição de ser avaliado. Frutos climatéricos são caracterizados por apresentarem um pico de produção de etileno, associado ao aumento da produção de CO₂, que pode preceder, acompanhar ou seguir o incremento respiratório (TAIZ; ZEIGER, 2006).

As características físicas dos frutos variaram de acordo com o estágio de maturação e no decorrer dos dias de avaliação. As análises estatísticas constataram interação significativa na maioria das variáveis analisadas entre os estádios de maturação e os dias de avaliação (Tabela 5.1). A exceção foi verificada para a variável cor da casca, que apresentou diferença significativa de maneira independente entre os estádios de maturação e os dias de análise (Tabela 5.1).

A longevidade dos cambucis foi influenciada pelo estágio de maturação dos frutos conforme passaram-se os dias após a colheita dos mesmos. Houve interação significativa entre as temperaturas e os dias transcorridos após a colheita para a podridão dos frutos (Tabela 5.1).

Os frutos colhidos no estágio 1 apresentaram coloração mais esverdeada, indicando que a maturação destes frutos era menos avançada, houve, contudo, um amarelecimento ao longo do período de avaliação. Os frutos do estágio 2 e 3 apresentaram coloração verde-amarelada e não diferiram entre si (Figura 5.3 A) e embora a oscilação observada nas curvas de ângulo de cor seja evidente, a variação da cor da casca do cambuci se alterou de forma sutil em tonalidade, por isto, aliado ao ângulo de cor (h°), optou-se por utilizar a variável de cromaticidade que indica quão intensa ou pura é determinada cor (MCGUIRE, 1992).

Figura 5.3 – Coloração da casca. Ângulo de cor (h°) (A) e de cromaticidade da casca (B) de frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=4$)

Os resultados para cromaticidade da casca dos frutos demonstraram redução ao longo das avaliações (Figura 5.3 B). A redução mais acentuada foi encontrada para os frutos colhidos no estágio 1, seguida daquela observada para frutos dos estádios 2 e 3. Esses resultados correspondem a maturidade dos frutos, visto que cambucis menos maduros apresentaram coloração verde mais intensa.

A firmeza da polpa evidenciou a diferença entre os três estádios no momento da colheita, e, portanto, este parâmetro poderia ser considerado como um índice de maturidade para o cambuci. Os frutos no estágio 1 apresentaram mais que o dobro da firmeza dos demais estádios, ainda assim, o estágio 2 diferiu do estágio 3 no dia da colheita (Figura 5.4 A). No intervalo entre a primeira e a segunda avaliação, houve uma redução abrupta da firmeza e o estágio 2 se igualou ao estágio 3, a perda da firmeza do E1 continuou e se igualou aos frutos do E2 a partir do quarto dia.

A perda da firmeza pode ser atribuída a dois processos que ocorrem ao longo do amadurecimento dos frutos, a perda de água, que diminui a pressão de turgescência nos tecidos (BARRETT; GONZALEZ, 1994), e as atividades de enzimas hidrolíticas. Enzimas como a poligalacturonase e pectinametilesterase promovem intensa solubilização das pectinas constituintes da parede celular, resultando no amaciamento da polpa (JAIN et al., 2001). Provavelmente o amolecimento da polpa dos frutos do estágio 1 se deveu ao segundo fator, pois perda água (Figura 5.4 B) não foi compatível a este comportamento. A maior firmeza nos frutos do E2 em relação aos frutos de E3 até dois dias após a colheita representa uma vantagem na vida-útil do fruto em sua pós-colheita.

Figura 5.4 – Firmeza da polpa (Newtons) (A) e Perda de massa (%) (B) de frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4).

Os frutos colhidos nos estádios 1 e 2 não diferiram entre si, quanto a perda de massa, os frutos do estágio 3 tiveram maior perda (Figura 5.4 B). Este resultado pode estar relacionado com o estágio de maturidade avançado, maior transpiração e presença de danos mecânicos - em

decorrência da coleta de frutos do solo. A perda de massa até sexto dia atingiu o valor máximo médio de 5,9 %; 5 a 10 % de perda de água são suficientes para reduzir a qualidade da maioria dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A perda de massa fresca é uma variável importante, pois está relacionada diretamente com a perda quantitativa (peso) e indiretamente com a perda na aparência, textura e na qualidade nutricional (KADER, 2011).

O teor de sólidos solúveis dos frutos colhidos no estágio 2 foi similar aos dos frutos colhidos no estágio 3, obtendo valores médios de 9,95 e 10,66 °Brix, mantidos até o segundo dia de armazenamento. No quarto dia o estágio 2 apresentou uma redução, igualando o seu comportamento aos frutos colhidos no estágio 1 (8,91 – 9,35 °Brix), que ao longo dos dias apresentou teor de sólidos solúveis sempre abaixo de 10 °Brix (Figura 5.5 A).

Figura 5.5 – Teor de sólidos solúveis (°Brix) (A) e de acidez titulável (% de ácido cítrico) (B) da polpa de cambuci colhidos em três estádios de maturação no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4).

A redução de SS não é um comportamento comum na evolução da maturação de frutos, durante este processo, umas das principais características é o acúmulo de açúcares o qual ocorre simultaneamente com a redução da acidez (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Por outro lado, os sólidos solúveis podem estar sujeitos a variações relacionadas a outros compostos, pois a sua medição não representa o teor exato dos açúcares, sendo outras substâncias tais como vitaminas, fenólicos, pectinas, ácidos orgânicos, encontradas dissolvidas nas amostras (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A acidez variou cerca de 0,5 % entre os estádios e ao longo do armazenamento, o valor mínimo foi 2,20 % e o máximo 2,72 %. Todavia, os frutos coletados do solo (E3), apresentaram menor acidez (Figura 5.5 B). Os parâmetros SS e AT que geralmente são utilizados como índice de maturação, não apresentaram capacidade discriminante dos estádios de maturação para

cambuci, seja por sua baixa variação entre os estádios e/ou durante o armazenamento, ou por não estarem sujeitos a variações relacionadas a outros compostos o que dificulta o estabelecimento de um intervalo que represente um estágio de maturação. Em goiabas, esta mesma limitação foi relatada por Azzolini et al. (2004), tanto o SS como AT não diferenciaram estádios de maturação dos frutos.

Entretanto, a relação SS/AT (*ratio*) foi capaz de distinguir os três estádios. Esta relação é utilizada como um critério de avaliação do sabor, pois relaciona o balanço entre açúcares e ácidos presente nas frutas, tende a aumentar durante o período de maturação e armazenamento (KLUGE, 2002). No ponto em que foram colhidos, os frutos maduros colhidos na planta (E2) encontrava-se com o mesmo *ratio* que os frutos do estágio 3 (Figura 5.6). Os frutos colhidos no estágio 1 não sofrem alteração no *ratio* entre os dias 0 e 6 (Figura 5.6), indicando que a colheita pode ter ocorrido prematuramente, antes da maturidade fisiológica, e que o cambuci pode não ser um fruto climatérico, não tendo a capacidade de melhorar suas características sensoriais, uma vez separados da planta (CAMPANA, 2007).

Figura 5.6 – Valores de *Ratio* (SS/AT) da polpa de frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4).

Em relação aos teores de ácido ascórbico houve redução acentuada para os frutos colhidos no estágio 3 de maturação, apresentando também a mesma tendência para os frutos caracterizados como do estágio 2 (Figura 5.7). O conteúdo de ácido ascórbico pode diminuir durante o amadurecimento em alguns frutos, reduzindo-se na senescência provavelmente em decorrência da oxidação de ácidos orgânicos (JACOMINO et al., 2015; BUTT, 1980). No caso do cambuci, pode ser observado o comportamento decrescente conforme seu amadurecimento

e senescência. Desta forma a colheita dos frutos no estágio 2 contribuiu para a preservação do teor de ácido ascórbico em níveis mais elevados que dos frutos coletados no solo (E3).

Figura 5.7 - Teor de ácido ascórbico da polpa de frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4).

A proporção entre os açúcares é responsável pelo grau de doçura do fruto. Dentre os principais açúcares presentes nos frutos, a frutose gera um sabor mais doce que a sacarose, que por sua vez tem um sabor mais doce que a glicose. Para o cambuci, observou-se maiores valores entre os teores de sacarose nos diferentes estádios de maturação, seguido pela frutose e em menor concentração a glicose (Figura 5.8). Usualmente a concentração de sacarose diminui enquanto que a de açúcares redutores (glicose e frutose) aumenta com o avanço da maturação (CHITARRA, 2000), no entanto, o desenvolvimento dos açúcares redutores não evoluem desta forma (Figura 5.8 B e C).

O alto teor de sacarose no dia 0 em frutos do E1 (Figura 5.8 A) pode ser um indício de que os frutos estavam imaturos. A sacarose é o principal açúcar de translocação das folhas para os frutos, e apenas em alguns deles – como na banana a sua concentração excede a de açúcares redutores (glicose e frutose), desta forma em frutos imaturos o alto teor de sacarose seria um resquício do acúmulo da translocação (CHITARRA, 2000).

Figura 5.8 – Teores de sacarose (A), frutose (B) e glicose (C) da polpa de frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

A clorofila está entre os principais pigmentos presentes nos frutos, sendo responsável pela coloração verde dos cambucis. Com a maturação, as clorofilas são degradadas pela ação da enzima clorofilase ou por modificações do pH, e por sistemas oxidativos, como perda do grupo fitol ou de Mg^{++} , formando compostos com colorações variadas ou incolores (JACOMINO et al., 2015). A análise dos teores de clorofila total dos cambucis apresentou uma redução para os estádios 2 e 3 de maturação (Figura 5.9). Ressalta-se um decréscimo acentuado para os teores de clorofila total dos frutos colhidos no estágio 3. Os demais frutos colhidos no estágio 2 preservaram o teor de clorofila até o segundo dia, enquanto que o estágio 1 não sofreu alteração do dia da colheita até o último dia de análise. As respostas na variação da clorofila estão de acordo com os resultados da coloração da casca, pois no estágio 1, a coloração verde

permaneceu praticamente a mesma ao longo do experimento, e nos estádios 2 e 3 a principal alteração da tonalidade verde para verde-amarelada ocorreu a partir dia 2 (Figura 5.3 A).

Figura 5.9 – Teores de clorofila total da casca de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Os frutos de cambuci colhidos nos estádios 1 e 2 de maturação apresentaram um comportamento similar no teor de compostos fenólicos, não variando do dia 0 até o dia 6, no entanto, o conteúdo em E1 foi superior. Em E3, o teor de compostos fenólicos foi crescente ao longo dos dias (Figura 5.10 A). Segundo Donado-Pestana et al. (2015), dos fenólicos totais em cambuci, 22–25 % correspondem a esta classe de taninos (proantocianidinas), o que indica que a presença de outros compostos fenólicos, como pigmentos, ácido abscísico, lignina, entre outros, em maior proporção no fruto que são determinantes para o comportamento observado.

Figura 5.10 – Teor de compostos fenólicos totais (A) e Taninos solúveis (B) da polpa de frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

O tanino solúvel é um parâmetro importante como índice de maturidade de cambuci, pois é responsável pela adstringência. Na boca ele precipita as proteínas e glicoproteínas presentes na saliva, a qual uma vez ligada aos receptores de sabor causa uma sensação de secura no palato (ITTAH, 1993), característica que restringe o consumo do fruto *in natura*. O teor de taninos solúveis dos frutos colhidos nos estádios 1 e 2 no momento da colheita foi maior que os frutos do estágio 3 (Figura 5.10 B), indicando que a adstringência é também menor nestes frutos e relaciona com o grau de maturação.

Durante o amadurecimento, o comportamento crescente das curvas de compostos fenólicos (Figura 5.10 A) pode ser atribuído ao aumento de taninos condensados. Em outras frutíferas é comum que durante o amadurecimento ocorra um aumento gradual na condensação dos taninos, ao mesmo tempo que a adstringência diminui, provavelmente, porque as formas altamente condensadas são menos solúveis e por isto reagem menos com as proteínas da boca (JACOMINO et al., 2015). A redução foi contínua até o dia 4 em E2 (Figura 5.10 A), momento em que o teor de taninos solúveis foi igual ao dia 0 dos frutos de E3 (Figura 5.10 B). Dado este parâmetro como um índice de maturidade, cabe dizer que os frutos colhidos em estágio 2 de maturação são capazes de reduzir sua adstringência ao mesmo nível que os frutos coletados no solo (E3). O aumento notado de taninos solúveis em E3 no dia 2 e em E2 no dia 6, também pode ser indicativo que os frutos de E2 se igualou aos do E3, em qualidade, no dia 4. Os frutos que resistiram no sexto dia, possivelmente eram também os frutos menos maduros, assim como em E3 no dia 2 (Figura 5.10 B).

A longevidade dos frutos de cambuci colhidos no estágio 3 de maturação apresentaram os maiores percentuais e em um intervalo de tempo menor em sua vida útil, atingindo percentual acima de 80 % no terceiro dia de avaliação (Figura 5.11). A incidência de podridões representa uma das principais causas de perda pós-colheita, pois o ataque de micro-organismos resulta em defeitos ou doenças que reduzem qualidade e a vida-útil dos frutos. As doenças pós-colheita podem ocorrer com infecção durante o armazenamento, ou a infecção ocorrida no campo, podendo permanecer latente até que ocorram condições favoráveis ao seu desenvolvimento, tais como alta umidade e menor resistência da casca que vão sendo alcançadas com o amadurecimento dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Desta forma, é possível relacionar a incidência de doenças com o grau de maturidade dos frutos em cada estágio, sendo que frutos do estágio 1 que apresentaram menor *ratio*, menor redução da firmeza, foram menos suscetíveis à doença e apresentaram menor perda por podridões (Figura 5.11). Frutos do estágio 2 que desenvolveram os atributos de maturidade, se

equiparando com os frutos do estágio 3, apresentaram maior incidência de podridões e estes por sua vez, tiveram o agravante de serem coletados no solo e já apresentarem aspecto de frutos maduros. O contato com o solo, além de ocasionar danos mecânicos pela queda natural, o que favorece a perda da firmeza e o contato com agentes fitopatológicos (Figura 5.11).

Figura 5.11 – Incidência de podridão em frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação no decorrer de 6 dias após a colheita. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

5.3.1.2. Perfil de compostos voláteis

A análise do perfil de compostos voláteis permitiu identificar 30 compostos distribuídos entre os três diferentes estádios de maturação ao longo dos dias de armazenamento (dia 0, 2, 4 e 6). Dentre eles, os compostos provenientes do metabolismo de terpenos aparecem em maior quantidade. A abrangência de mais estádios de maturação e os diferentes dias após a colheita, resultou em uma detecção de compostos diferentes dos descritos no capítulo 4, sobre caracterização do cambuci.

Tabela 5.2: Descrição dos compostos voláteis emitidos por frutos de cambucizeiro, colhidos em três estádios de maturação, analisados nos dias 0, 2, 4 e 6 após a colheita.

Composto	Nome do Composto/ CAS* ¹	Estrutura	Notas de Aroma* ²	Classe Química
C1	1,1'- biciclobutila 7051-52-7		ND	Cicloalcano

C2	(E)- β -ocimeno 3779-61-1		Suave, erva	Terpeno
C3	2-Propenal 107-02-8		Frutado (amêndoa, cereja)	Aldeído
C4	Aloaromadendreno 25246-27-9		Amadeirado	Terpeno
C5	Ácido butanóico 2639-63-6		Manteiga, queijo	Ácido graxo
C6	d-cadineno 483-76-1		Herbáceo	Terpeno
C7	Dietil succinato 123-25-1		Vinílico, frutado	Éster
C8	D-Limoneno 5989-27-5		Hortelã, frutado (limão)	Terpeno
C9	Etil(metiltio)acetato 4455-13-4		Frutado	Tio éster
C10	Etil (Z)-4-decenoato 7367-84-2		ND	Éster
C11	Etil cis-4-octenoato 34495-71-1		Frutado (abacaxi)	Éster
C12	Etil hexanoato 123-66-0		Frutado (abacaxi, banana)	Éster
C13	Etil octanoato 106-32-1		Frutado, floral (damasco)	Éster
C14	Etil trans-4-decenoato 76649-16-6		Fruta-verde	Éster
C15	Eucaliptol 470-82-6		Canforado	Éter cíclico terpênico
C16	Isobutil propionato 540-42-1		Frutado, etéreo suave	Éster
C17	Linalool 78-70-6		Floral, cítrico, lavanda	Álcool terpênico
C18	o-cimeno 527-84-4		ND	Terpeno
C19	Fenetil butirato 103-52-6		Doce, frutado (morango, uva)	Éster
C20	Fenetil butirato 103-52-6		Doce, frutado (morango, uva)	Éster
C21	Propanal 123-38-6		Etéreo, pungente	Aldeído
C22	Terpinen-4-ol 562-74-3		<i>Pinus</i> , noz-moscada	Álcool terpênico

C23	α -cubebeno 17699-14-8		Erva, cera	Terpeno
C24	α -humuleno 6753-98-6		Amadeirado	Terpeno
C25	α -felandreno 99-83-2		Hortelã, pimenta, herbáceo	Terpeno
C26	α -terpineol 98-55-5		Óleo, anis, hortelã	Terpeno
C27	β -cubebeno 13744-15-5		Cítrico, frutado	Terpeno
C28	β -selineno 17066-67-0		Erva	Terpeno
C29	β -terpineno 99-84-3		Frutado (limão)	Terpeno
C30	δ -elemeno 29873-99-2		Amadeirado, óleo	Terpeno

*1: Número de registro único no banco de dados do Chemical Abstracts Service, divisão da Chemical American Society. *2: Referências: Buttery e Ling (1993) e Schwab, Davidovich-Rikanati e Lewinsohn, 2008. The Good Scents Company, 2013. Fonte: <http://www.thegoodscentscompany.com/>; <http://www.flavornet.org/flavornet.html>; <http://www.pherobase.com/>. ND: Não Determinado

A avaliação no início do experimento (dia 0) revelou uma maior concentração de compostos voláteis nos frutos colhidos no estágio 3 de maturação, acompanhado em sequência dos frutos colhidos no estágio 2 e 1 (Figura 5.12 A). As amostras de cada estágio de maturação dos frutos projetaram-se em regiões distintas no plano, apresentado na Análise de Componentes Principais (ACP).

No primeiro componente principal (CP1) responsável por explicar 39,70 % do total da variabilidade, as amostras dos frutos no estágio 3 concentraram-se na região negativa (Figura 5.12 A). Os compostos voláteis identificados em maior concentração foram 1,1'-biciclobutila, ácido butanoico, etil trans-4-decenoato, linalool e α -terpineol. Estes compostos apresentam notas aromáticas frutais, florais e herbáceo (Tabela 5.2), o que remete ao cambuci maduro, um aroma doce, agradável e refrescante. Por outro lado, as amostras dos estádios 2 e 1 agruparam-se na região positiva (Figura 5.12 A). Contudo, verificou-se que uma das amostras do estágio 1 (E1.4) (Figura 5.12 B) foi discrepante das demais do mesmo grupo, assemelhando-se com as amostras do estágio 3, possivelmente o fruto estaria mais maduro.

O segundo componente principal (CP2) explicou 31,90 % do total da variabilidade observada, permitindo a separação das amostras dos estádios de maturação 1 e 2 (Figura 5.12 A). Na extremidade da região positiva, projetaram-se os compostos propanal, α -cubebeno e β -terpineno que foram detectados em maiores concentrações nos frutos do estágio 1, as notas

Figura 5.12 - Análises multivariadas de compostos voláteis emitidos no dia 0 por frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação. A) Análise de Componentes Principais (Biplot) e B) Análise de Agrupamento Hierárquico e Heatmap. Em B, as cores vermelha e azul indicam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente. Cada símbolo é uma amostra independente. E1, E2, E3 = estádio de maturação. C1 = 1,1'-biciclobutila; C3 = 2-Propenal; C5 = Ácido butanóico; C6 = d-cadineno; C8 = D-Limoneno; C9 = Etil(metil)acetato; C12 = Etil hexanoato; C13 = Etil octanoato; C14 = Etil trans-4-decenoato; C15 = Eucaliptol; C17 = Linalool; C21 = Propanal; C22 = Terpinen-4-ol; C23 = α -cubebeno; C24 = α -humuleno, C26 = α -terpineol, C29 = β -terpineno.

aromáticas destes compostos estão entre pungente, herbáceo e frutado, neste caso, que remete ao limão (Tabela 5.2). Na região negativa do mesmo CP, os compostos etil hexanoato e etil octanoato destacaram-se, com maiores concentrações para as amostras dos frutos no estágio 2, o aroma proveniente destes compostos é predominantemente frutado, que se assemelham ao de outras frutas tropicais como abacaxi e banana (Tabela 5.2). Esta característica aromática evidenciou a maior maturidade dos frutos do E2 em relação dos frutos do estágio E1.

O dendrograma obtido pela Análise de Agrupamento Hierárquico (AAH) e pela construção do Heatmap confirmaram as tendências observadas através da análise dos componentes principais; o agrupamento ocorreu de acordo com estágio de maturação (Figura 5.12 B). Os resultados revelaram maior concentração dos compostos voláteis nas amostras dos frutos do estágio 3 (Figura 5.12 B), com destaque para o agrupamento dos compostos enumerado como 6. Estes compostos evidenciam que um estágio de amadurecimento dos frutos do estágio 3 é mais avançado, tanto pela abundância, como pela nota aromática (Tabela 5.2) que em sua maioria é frutada, com exceção do eucaliptol e α -terpineol que conferem aroma canforado ou de anis, o que sugere ser característico do cambuci. As notas aromáticas dos principais compostos do estágio 2, também tinham de caráter frutado, o que leva ao perfil de frutos mais maduros; o estágio 1, por sua vez, apresentou aromas relacionados a ervas, pungente, etéreo.

Os resultados da segunda avaliação (dia 2) tornam mais consistentes as diferenças em relação à primeira avaliação. Nesse sentido, nota-se uma maior gama de compostos voláteis, 25 no total, no entanto há uma redução na concentração de voláteis nos frutos colhidos no estágio 3 de maturação (Figura 5.13 B).

O primeiro componente principal (CP1), que explica 50,90 % do total da variabilidade, agrupou as amostras dos estádios 1 e 2 na região negativa, enquanto as amostras do estágio 3 foram agrupadas na região positiva (Figura 5.13 A). Os principais metabólitos envolvidos nessa diferenciação foram d-cadineno, β -terpineno próximos à extremidade positiva do CP1, enquanto os compostos aloaromadendreno, fenetil butirato, β -selineno, etil (Z)-4-decenoato, terpinen-4-ol, 1,1'-biciclobutila e 2-propenal na extremidade negativa, as notas aromáticas características destes compostos remetem à madeira e ervas (Tabela 5.2).

Os resultados relativos ao segundo componente principal (CP2) responsável por explicar 23,60 % do total da variabilidade, agrupou as amostras do estágio 1 na região negativa e 2 na região positiva do plano, as amostras do estágio 3, com exceção da amostra E3.1, ficaram agrupadas na mesma região do estágio 2 (Figura 5.13 A).

Figura 5.13 - Análises multivariadas de compostos voláteis emitidos no dia 2 por frutos de cambucizeiros coletados em três estádios de maturação. A) Análise de Componentes Principais (Biplot) e B) Análise de Agrupamento Hierárquico e Heatmap. Em B, as cores vermelha e azul indicam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente. Cada símbolo é uma amostra independente. E1, E2, E3 = estádio de maturação. C1 = 1,1'-biciclobutila C2 = (E)- β -ocimeno; C3 = 2-Propenal; C4 = Aloaromadendreno; C6 = d-cadineno; C8 = D-Limoneno; C9 = Etil(metil)acetato; C10 = Etil (Z)-4-decenoato; C11 = Etil cis-4-octenoato; C12 = Etil hexanoato; C13 = Etil octanoato; C14 = Etil trans-4-decenoato; C15 = Eucaliptol; C17 = Linalool; C19 = Fenil butirato; C21 = Propanal; C22 = Terpinen-4-ol; C23 = α -cubebeno; C24 = α -humuleno, C25 = α -felandreno, C26 = α -terpineol, C27 = β -cubebeno, C28 = β -selineno, C29 = β -terpineno, C30 = δ -elemeno.

Os resultados expressados graficamente na figura 5.13 B demonstraram que as amostras dos estádios de maturação 1 e 2 tiveram maior similaridade, mas os três estádios se agruparam de forma independente. O estágio 1 foi discriminado pelos compostos α -cubebeno; α -humuleno, etil(metiltio)acetato, etil hexanoato; propanal, linalool e α -terpineol,. O estágio 2 pela presença de eucaliptol; etil octanoato, etil cis-4-octenoato e etil trans-4-decenoato. O estágio 3 principalmente pela baixa frequência dos compostos presentes nos outros estádios e presença do β -terpineno, D-limoneno e (E)- β -ocimeno (Figura 5.13 B).

A maior abundância de compostos detectados nos estádios 1 e 2 pode estar relacionada com processos do amadurecimento. Mesmo que os frutos não tenham atingido a maturidade por completo, foi notado alteração da qualidade organoléptica. Os compostos predominantes nos frutos do E1 eram da classe dos terpenos, em sua maioria, com destaque para o linalool, β -cubebeno e α -humuleno que conferem, respectivamente, o aroma floral, herbal e amadeirado. Os compostos discriminantes dos frutos do E3, que neste dia estavam avançados em seu amadurecimento, eram todos originados de terpenos e característicos de frutos maduros. O D-limoneno, por exemplo, é o componente volátil mais abundante nos citrus cultivados comercialmente (DUGO; DI GIACOMO, 2002) e sua presença na casca de laranja madura está relacionada com maior atração de microrganismos patogênicos (RODRÍGUEZ et al., 2017).

Os quatro compostos predominantes do E2, supracitados, eram da classe dos ésteres, e com exceção do eucaliptol (éter), todos possuem notas aromáticas frutais (Tabela 5.2). Os ésteres são importantes componentes aromáticos, geralmente com baixos limiares de odor fornecem aromas característicos, que os humanos associam a frutas maduras. Estão entre os compostos mais abundantes no morango, compõe cerca de 90 % do número total de voláteis no fruto maduro (JETTI et al., 2007). Neste contexto, é relevante ressaltar que embora os resultados tenham revelado maior abundancia de compostos para o E1, olfativamente, em frutos do E2 a percepção de aromas de frutos maduros foi maior durante o experimento.

A avaliação realizada no quarto dia acompanhou a tendência observada na avaliação anterior, com a presença de menor quantidade de compostos voláteis, 22 no total. A formação de metabólitos voláteis nas amostras dos frutos nos estádios 3 de maturação foi menor do que nas amostras de E1 e E2 (Figura 5.14). O primeiro componente principal (CP1) responsável por explicar 42,50 % do total da variabilidade, agrupou as amostras dos estádios 1 e 2 na região negativa, enquanto as amostras do estágio 3 foram agrupadas na região positiva (Figura 5.14 A). Os principais metabólitos envolvidos nessa diferenciação foram d-cadineno, α -humuleno, α -felandreno e δ -elemeno, próximos à extremidade positiva do CP1, enquanto os

Figura 5.14 - Análises multivariadas de compostos voláteis emitidos no dia 4 por frutos de cambucizeiros coletados em três estádios de maturação. A) Análise de Componentes Principais (Biplot) e B) Análise de Agrupamento Hierárquico e Heatmap. Em B, as cores vermelha e azul indicam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente. Cada símbolo é uma amostra independente. E1, E2, E3= estádio de maturação. C1 = 1,1'-biciclobutila; C3 = 2-Propenal; C4 = Aloaromadendreno; C6 = d-cadineno; C7 = Dietil succinato; C9 = Etil(metil)acetato; C10 = Etil (Z)-4-decenoato; C11 = Etil cis-4-octenoato; C12 = Etil hexanoato; C13 = Etil octanoato; C14 = Etil trans-4-decenoato; C16 = Isobutil propionato; C17 = Linalool; C18 = o-cimeno; C22 = Terpinen-4-ol; C23 = α -cubebeno; C24 = α -humuleno, C25 = α -felandreno, C26 = α -terpineol, C27 = β -cubebeno, C29 = β -terpineno, C30 = δ -elemeno.

compostos 1,1'-biciclobutila, aloaromadendreno, etil cis-4-octenoato e o-cimeno na extremidade negativa.

O segundo componente principal (CP2), responsável por explicar 27,90 % do total da variabilidade, agrupou as amostras dos frutos do E2 na região positiva do plano, enquanto as amostras dos estádios 1 e 3 na região negativa, exceção feita apenas para a amostra E3.1 do estágio 3 (Figura 5.14 A).

Os resultados da Análise de Agrupamento Hierárquico (AAH) indicaram uma segregação entre os três estádios de maturação. Os metabólitos β -terpineno, 1,1'-biciclobutila; 2-propenal, α -terpineol e linalool discriminou o E1 (Figura 5.14 B). Como nos dias 0 e 2, houve a predominância de terpenóides no perfil aromático deste estágio.

Os compostos pertencentes à classe dos ésteres: etil(metiltio)acetato; etil (Z)-4-decenoato, dietil succinato, isobutil propionato, etil hexanoato e etil octanoato (Figura 5.14 B), foram responsáveis pela diferenciação do E2. A presença destes compostos confere aos frutos do E2 um caráter aromático agradável, com notas de aroma de fruta madura, frescas e suaves (Tabela 5.2). O etil hexanoato é um dos cinco compostos responsáveis pela característica aromática do abacaxi (*Ananas comosus* L. Merr.) e o etil octanoato é característico do aroma de pêras (*Pyrus* L.) e damascos (*Prunus armeniaca* L.) (RIZZOLO, et al., 1991; NIJSSEN et al., 2007; ZHENG et al., 2012).

No quarto dia de armazenamento os compostos foram mais abundantes nos frutos do E2, os principais voláteis permaneceram sendo de origem de éster e com caráter frutado. Os frutos do estágio 3, embora apresentassem notas frutais ao longo das avaliações, o seu perfil aromático não foi marcado pela predominância de ésteres. Nos frutos do estágio 1, as notas aromáticas variavam entre frutado, floral e mentolado; dos cinco compostos discriminantes, três eram oriundos de terpenos.

Na última avaliação (dia 6), apenas amostras dos estádios 1 e 2 de maturação foram avaliadas e foram detectados 13 compostos para estes estádios. As amostras de cada estágio de maturação projetaram-se em regiões distintas do plano (Figura 5.15 A). No CP1 responsável por explicar 48,90 % do total da variabilidade, as amostras do E2 foram separadas na região negativa, pela presença e/ou abundância dos compostos 2-propenal, etil hexanoato e isobutil propionato, enquanto as amostras do E1 concentraram-se na região positiva pela presença do etil octanoato, etil trans-4-decenoato, linalool e α -terpineol (Figura 5.15 A).

Figura 5.15 - Análises multivariadas de compostos voláteis emitidos no dia 6 por frutos de cambucizeiros coletados em dois estádios de maturação. A) Análise de Componentes Principais (Biplot) e B) Análise de Agrupamento Hierárquico e Heatmap. Em B, as cores vermelha e azul indicam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente. Cada símbolo é uma amostra independente. E1, E2 = estágio de maturação. C1 = 1,1'-biciclobutila; C3 = 2-Propenal; C5 = Ácido butanóico; C9 = Etil (metiltio)acetato; C10 = Etil (Z)-4-decenoato; C12 = Etil hexanoato; C13 = Etil octanoato; C14 = Etil trans-4-decenoato; C15 = Eucaliptol; C16 = Isobutil propionato; C17 = Linalool; C26 = α-terpineol, C29 = β-terpineno.

O CP2 explicou 36,40 % do total da variabilidade permitindo a separação das amostras do E2 na região negativa do plano e as amostras do E1 na região positiva, com exceção da amostra E1.1 (Figura 5.15 A). Na extremidade da região positiva, projetaram-se os compostos 2-propenal e β -terpineno e na região oposta do mesmo CP os compostos etil (Z)-4-decenoato, eucaliptol e isobutil propionato.

O dendrograma obtido pela Análise de Agrupamento Hierárquico (AAH) e pela construção do Heatmap separou os estádios de maturação em dois agrupamentos. Os compostos voláteis em maior concentração, responsáveis pela separação dos grupos, foram em E1 o β -terpineno, α -terpineol, linalool, etil octanoato e etil trans-4-decenoato; em E2 o 2-propenal, etil (Z)-4-decenoato, etil hexanoato, eucaliptol e isobutil propionato (Figura 5.15 B).

A partir do resumo dos principais compostos voláteis, apresentados no Quadro 1, nota-se que os resultados obtidos durante os dias de armazenamento, confirmaram a diferença do perfil de compostos voláteis entre os estádios de maturação do cambuci. Os frutos colhidos no E2 mantiveram como principais metabólitos voláteis, os compostos provenientes dos ésteres (Quadro 1). Do dia 0 ao dia 4 houve aumento progressivo da quantidade e intensidade dos compostos (Quadro 1), ou seja, o cambuci se tornou mais aromático, um atributo fundamental da qualidade organoléptica dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Mesmo sendo o último dia de armazenamento, que representaria a senescência dos frutos, o aroma frutal foi preservado. O estágio 1 também apresentou compostos com caráter frutal, mesclado com notas mentoladas (α -terpineol) e florais (linalool), oriundos tanto da classe dos terpenos como dos ésteres (Quadro 1). Contudo, a menor abundância e intensidade de compostos indicam que diferentemente do E2, não houve um progresso na qualidade organoléptica dos frutos ao longo do amadurecimento.

Embora os terpenóides sejam importantes componentes de aromas de diversas frutas (EL HADI et al., 2013), os metabólitos detectados nos diferentes dias do armazenamento, principalmente nos frutos do E1 e E3, como o linalool (floral, frutado), α -terpineol (hortelã), α -humuleno (madeira), terpinen-4-ol (noz-moscada), D-limoneno (hortelã, limão), (E)- β -ocimeno (erva) e α -cubebeno (erva), não têm notas aromáticas relacionadas à fruta madura. Entretanto, a presença marcante destes compostos voláteis nos distintos estádios de maturação revela a sua importante participação na composição do aroma do cambuci (Quadro 1). Os terpenos originam um amplo espectro de aromas que são facilmente percebidos e muito agradáveis. Por isto são componentes de impacto no caráter aromático de ervas aromáticas, vinhos, frutos e especiarias (BELITZ et al., 2009).

CLASSE	Ác. graxo	Aldeído	Éter	Éster								Terpeno											
COMPOSTOS	Ácido butanóico	2-Propenal	Propanal	Eucaliptol	Dietil succinato	Etil hexanoato	Etil octanoato	Etil cis-4-octenoato	Etil(metil)acetato	Etil (Z)-4-decenoato	Etil trans-4-decenoato	Isobutil propionato	D-Limoneno	d-cadineno	(E)-β-ocimeno	Linalool	Terpinen-4-ol	α-felandreno	α-humuleno	α-cubebeno	α-terpineol	β-terpineno	δ-elemeno
DIA 0																							
E1			▲																	▲		▲	
E2						◆	◆		◆														
E3	●	●		●							●					●	●				●		
DIA 2																							
E1			▲			▲			▲							▲			▲	▲	▲		
E2				◆			◆	◆		◆													
E3													●		●							●	
DIA 4																							
E1		▲														▲					▲	▲	
E2					◆	◆	◆		◆	◆		◆											
E3													●					●	●				●
DIA 6																							
E1							▲				▲					▲					▲	▲	
E2		◆		◆		◆				◆		◆											

Quadro1. Resumo dos principais compostos voláteis emitidos por cambucis, colhidos em três estádios de maturação, analisados nos dias 0, 2, 4 e 6 após a colheita. Estádios de maturação: E1 = ▲, E2 = ◆ e E3 = ●.

5.3.2. Padrão respiratório do cambuci

A atividade respiratória e a produção de etileno dos cambucis variaram de acordo com o estágio de maturação dos frutos e os tratamentos com e sem aplicação de etileno. Houve diferença significativa entre os estádios de maturação, os tratamentos com e sem aplicação exógena de etileno e os dias de avaliação (Tabela 5.3). Diferenças significativas foram encontradas também para a interação entre dias de avaliação e os estádios de maturação dos frutos (Tabela 5.3). Contudo, não foi constatada diferença entre a interação entre os estádios de maturação dos frutos e os tratamentos realizados com e sem aplicação exógena de etileno (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 – Análise de variância (ANOVA) pelo teste F para a atividade respiratória ($\text{mL kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ de CO_2) e produção de etileno ($\mu\text{L kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ de C_2H_4) de frutos de cambucizeiro em três estádios de maturação (E1, E2 e E3) no decorrer de nove dias após tratamento com aplicação de 500 ppm de etileno e controle

Causas da Variação	Variáveis	
	Atividade respiratória	Produção de etileno
	----- Valor de F -----	
DIA (D)	61,48*	51,69*
TRATAMENTO (TRAT)	10,67*	7,71*
ESTÁDIO DE MATURAÇÃO (EM)	101,46*	115,23*
D x TRAT	1,76 ^{ns}	1,67 ^{ns}
D x EM	7,76*	6,47*
TRAT x EM	1,50 ^{ns}	2,80 ^{ns}
D x TRAT x EM	1,15 ^{ns}	1,24 ^{ns}
Média Geral	25,77	2,87
C.V. (%)	78,77	9,56

ns e *: não-significativo e significativo, respectivamente, a 5 % de probabilidade pelo teste F. Atividade respiratória: $\text{mL kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ de CO_2 ; Produção de etileno: $\mu\text{L kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ de C_2H_4 .

De acordo com os resultados da atividade respiratória e produção de etileno, o cambuci possui um padrão respiratório não-climatérico, pois ao longo dos dias e para os três estádios de maturação não houve ocorrência de picos na produção de CO_2 e de C_2H_4 . Isto pode ser notado nos frutos do controle (Figura 5.16) e observado também em frutos expostos a aplicação de etileno. Em frutos não-climatéricos, a exposição de etileno exógeno resulta numa resposta imediata na elevação do padrão respiratório, havendo um posterior declínio. No comportamento climatérico ocorre um adiantamento no pico respiratório e produção autocatalítica de etileno continua após a retirada do tratamento, acompanhado de uma resposta na maior parte dos índices de maturidade próprios de cada fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Frutos não-climatéricos também podem ser caracterizados pela ausência de elevação repentina na síntese de etileno, o que pode corresponder a sua incapacidade de síntese autocatalítica (CASTRO et al., 2008). O pico de produção de etileno observado no dia 1, logo após a retirada dos frutos da exposição a esse hormônio, se refere a detecção do etileno exógeno (Figuras 5.16 A, B e C). A avaliação em 4 horas após a abertura, representado por dia 1', expressou o declínio do etileno para o mesmo nível do dia 0, que permaneceram baixos nos três estádios até o final do experimento ou senescência dos frutos. (Figura 5.16).

O incremento da produção de etileno a partir do dia 5 em frutos colhidos no estágio 1 (Figura 5.16 A), tanto no controle como nos frutos tratados com etileno, possivelmente é proveniente do sistema 1 (etileno auto inibitório) que é responsável pelo nível basal do

hormônio encontrado, tanto em frutos climatéricos, em pré-climatéricos, como em não-climatéricos (TAIZ; ZEIGER, 2006). Este aumento na produção de etileno, não está associado com o climatério, pois o controle apresentou o mesmo comportamento, ademais os frutos do estágio 1, foram colhidos menos maduros, então a resposta ao etileno exógeno deveria antecipar os picos e por consequência o amadurecimento dos frutos, caso fossem climatéricos.

Figura 5.16 – Atividade respiratória (eixo esquerdo) e produção de etileno (eixo direito) de frutos de cambucizeiros em estádios de maturação Estádio 1 (A), Estádio 2 (B) e Estádio 3 (C), avaliados durante nove dias após tratamento com etileno exógeno. Curvas em vermelho representa a atividade respiratória, em azul a produção de etileno. Tracejado: controle e Linha cheia: tratamento com 500 ppm de etileno. Barras verticais representam o erro padrão da média ($n=6$). Dia 1 representa o momento da abertura da câmara, 24 horas após o tratamento e Dia 1', 4 horas após a abertura da câmara.

A diferença entre os três estádios de maturidade utilizados para o cambuci pode ser percebida pela amplitude dos picos da produção de etileno logo após a retirada do tratamento. Os valores foram maiores quanto mais imaturos estavam os frutos, em E1 atingiu valores de 25 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 5.16 A), enquanto em E3 não ultrapassou de 15 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 5.16 C). Independentemente de serem climatéricos ou não-climatéricos, os frutos podem responder ao etileno e apresentarem sensibilidade ao hormônio. Isso ocorre devido à presença de receptores de etileno presentes nas membranas celulares em todos os tecidos (BARRY; GIOVANNONI, 2007). A resposta ao etileno ocorre pela sua ligação a um receptor específico, responsável por enviar o sinal para sua ativação. Um dos possíveis mecanismos que contribuem para a indução da biossíntese do etileno é a mudança na receptividade do tecido ou na sensibilidade ao etileno que são dependentes do estágio de desenvolvimento, variedade e percepção por parte do órgão da planta (ALTVORST; BOVY, 1995; CIARDI; KLEE, 2001).

As características físico-químicas dos frutos de cambuci variaram de acordo com os estádios de amadurecimento e com o decorrer dos dias após realizado o tratamento. A interação significativa foi constatada entre os dias e estádios de amadurecimento para todas as variáveis, com exceção da coloração da casca. O tratamento variou significativamente apenas para as variáveis firmeza e coloração da casca com a interação dias de avaliação (Tabela 5.4.).

Tabela 5.4 – Análise de variância (ANOVA) pelo teste F para as características físico-químicas de frutos de cambucizeiro em três estádios de maturação (E1, E2 e E3) no decorrer de nove dias após tratamento com e sem aplicação de etileno exógeno de - 500 ppm

Causas da Variação	Variáveis				
	SS	AT	Ratio	Firmeza	°h
----- Valor de F -----					
DIA (D)	50350,4*	822751,0*	704895,0*	381631,0*	15,30*
TRATAMENTO (TRAT)	3,6 ^{ns}	1,0 ^{ns}	7,0*	1,0 ^{ns}	2,27 ^{ns}
ESTÁDIO (EM)	42623,8*	668106,0*	584625,0*	313465,0 ^{ns}	55,38*
D x TRAT	1,5 ^{ns}	1,0 ^{ns}	2,0 ^{ns}	3,0*	3,17*
D x EM	23048,6*	377835,0*	318841,0*	177452,0*	2,00 ^{ns}
TRAT x EM	1,8 ^{ns}	0,01 ^{ns}	1,0 ^{ns}	1,0 ^{ns}	0,77 ^{ns}
D x TRAT x EM	1,0 ^{ns}	1,0 ^{ns}	1,0 ^{ns}	1,0 ^{ns}	0,46 ^{ns}
Média Geral	9,97	3,85	2,60	1,29	109,48
C.V. (%)	5,49	3,67	6,66	17,33	2,71

ns *: não-significativo e significativo, respectivamente, a 5 % de probabilidade pelo teste F. Sólidos Solúveis (SS): °Brix; Acidez Titulável (AT): % de ácido cítrico; Ratio = SS/AT; Firmeza da polpa: Newtons (N), Ângulo de Cor Hue (°h)

Como acompanhamento das respostas à aplicação de etileno, foram avaliados o teor de sólidos solúveis, acidez titulável, relação SS/AT, firmeza da polpa e coloração da casca, que frequentemente são influenciados pela ação fisiológica deste hormônio. Como citado no item anterior, os parâmetros SS e AT não são bons discriminantes da maturação de cambuci, mais uma vez nota-se nos frutos do controle, que embora o teor de SS não se altere (Figura 5.17 A), a acidez titulável decai ao longo do armazenamento (Figura 5.17 C), o que dificulta o estabelecimento de um intervalo que represente um estágio de maturação, bem como a evolução do amadurecimento.

Figura 5.17 – Teores de sólidos solúveis, acidez titulável e *Ratio* (SS/AT) da polpa de frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação e avaliados no decorrer de nove dias após tratamento. Sólidos solúveis sem tratamento (A), sólidos solúveis com aplicação de etileno (B). Acidez titulável sem tratamento (C), acidez titulável com aplicação de etileno (D). *Ratio* sem tratamento (E) *Ratio* com aplicação de etileno (F) Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

O etileno exógeno influenciou na composição de sólidos solúveis dos frutos, embora os resultados não indiquem uma evolução padrão de amadurecimento. Os frutos do estágio 1 sofreram uma redução no teor de sólidos solúveis, enquanto os frutos do E2 e E3, tiveram o teor de SS conservados do dia 0 para o seu último dia de avaliação (Figura 5.17 B). Por mais que a medição de SS não represente o teor exato dos açúcares, podendo estar contidas outras substâncias dissolvidas, tais como vitaminas, fenólicos, pectinas, ácidos orgânicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005), a redução no teor de sólidos solúveis nos frutos do estágio 1 não parece estar relacionada com o amadurecimento, pois a resposta dos demais atributos de qualidade não retrata o mesmo.

Os frutos dos três estádios de maturação que receberam o tratamento apresentaram os valores de *ratio* estáveis no decorrer dos dias de avaliação (Figura 5.17 F). Os resultados da relação SS/AT evidenciaram que o etileno exógeno, mesmo afetando a composição de sólidos solúveis em um determinado estágio de amadurecimento do cambuci, não foi capaz de alterar a doçura do fruto (Figura 5.17 B).

Em relação à firmeza da polpa, o tratamento não resultou em alteração comparado com o controle nos três estádios de maturação (Figuras 18 A e B). Em cerejas, fruto não-climatérico que mantém níveis baixos de etileno durante seu desenvolvimento, a respiração dos frutos não é estimulada pela presença de etileno exógeno durante os estádios tardios do desenvolvimento de tais frutos e da mesma maneira, o tratamento não afeta a sua firmeza (LI; ANDREWS; PATTERSON, 1994).

Figura 5.18 Valores de firmeza da polpa de frutos de cambucizeiros colhidos em três estádios de maturação e avaliados no decorrer de nove dias após tratamento sem (A) e com (B) aplicação de 500 ppm de etileno. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Do ponto de vista da maturidade sensorial, os frutos não-climatéricos não respondem ao tratamento com etileno, exceto para alguns atributos, como término do desverdecimento em laranjas, ou em pimenta devido à diminuição do teor de clorofila (DOMINGUES et al., 2001; THANG, 2007). No entanto, a coloração da casca pouco foi alterada, era previsível que este parâmetro sofreria menor variação, pois a cor do cambuci se altera sutilmente entre tonalidades de verde. O ângulo de cor da casca do cambuci não diferiu entre frutos tratados e não tratados com etileno (Figuras 5.19 A e B), mesmo em E1, que aparentou ter um decréscimo no ângulo no dia 9, não diferiu do controle para o mesmo dia.

Figura - 5.19 Valores ângulo de cor da casca de frutos de cambuci colhidos em três estádios de maturação no decorrer de nove dias após tratamento sem (A) e com (B) aplicação de 500 ppm de etileno. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

5.4. Conclusão

O estágio de maturação 2, caracterizado por frutos maduros colhidos na planta, com coloração verde-amarelada e região equatorial levemente arredondada foi o ponto de colheita ideal para cambuci.

A vantagem de se adotar o estágio 2 como ponto de colheita reside na qualidade igual ou superior aos frutos do estágio 3, correspondente aos frutos coletados no chão. A adstringência foi reduzida ao mesmo nível que os frutos do estágio 3, o conteúdo de vitamina C foi superior e a vida-útil pós-colheita foi acrescida em pelo menos 2 dias. O aumento da longevidade pode ser atribuído ao menor índice de perda por podridões, perda de massa frutos e maior firmeza da polpa.

O cambuci apresentou um padrão respiratório não-climatérico, mesmo com a aplicação de etileno exógeno, não havendo ocorrência de picos na produção de CO₂ e de C₂H₄, característicos de climatérico.

Mesmo sem atingir a maturidade por completo, houve alteração da qualidade sensorial dos frutos, e a diferença entre os estádios de maturação foi comprovada pela configuração do perfil dos compostos voláteis ao longo dos dias após a colheita, tanto pela abundância de metabólitos, como pela nota aromática. Frutos mais verdes apresentaram aromas herbáceo, etéreo ou pungente e à medida que amadureceram passaram a ser frutados e canforados.

Os principais metabólitos voláteis que compõe o perfil aromático do cambuci são das classes dos terpenos, em predominância nos frutos dos estádios E1 e E3 e dos ésteres nos frutos do E2, que conferem melhor qualidade organoléptica dos frutos.

Referências

ALTVORST, A. C. V.; BOVY, A. G. The role of ethylene in the senescence of carnation flower, a review. **Plant Growth Regulation**, Amsterdam, v.16, n. 1, p. 43-53, 1995.

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; BRON, I. U. Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 139-145, 2004.

BARRETT, M. D.; GONZALEZ, C. Activity of softening enzymes during cherry maturation. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 3, p. 574–577, 1994.

BARRY, C. S.; GIOVANNONI, J. J. Ethylene and fruit ripening. **Journal of Plant Growth Regulation**, Secaucus, v. 26, p. 143-159, 2007.

BELITZ, H. D., GROSCH, W., SCHIEBERLE, P. Aroma compounds. In: BELITZ, H. D., GROSCH, W.; SCHIEBERLE. **Food chemistry**. Berlin: Springer, 3rd ed., pp. 342–408, 2009.

BUTT, V. S. Direct oxidases and related enzymes. In: STUMPF, P. K.; CONN, E. E. (Ed.). **The biochemistry of plants: a comprehensive treatise**. New York: Academic, 1980. v. 2, p. 81-123.

CAMPANA, B.; M. R. Índices de madurez, cosecha y empaque de frutas. In: SOZZI, Gabriel O./ **Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento**. 1.ed. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires, 2007. p.703–768.

CHITARRA, M. I. F **Tecnologia e qualidade pós-colheita de frutos e hortalíça**. Lavras, Ed. UFLA. 2000. 68p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: Ed. UFLA, 2005. 785p

CIARDI, J.; KLEE, H. Regulation of ethylene-mediated responses at the level of the receptor. **Annals of Botany**, London, v. 88, p. 813-822, 2001.

DOMINGUES, M. C. S.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. The effect of postharvest application of Ethephon on change peel color of sweet orange. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23: p. 555-558, 2001.

DONADIO, L. C.; CRUZ, M. P.; BISOGNINI, H. L. **Cambuci**. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 22p.

DONADO-PESTANA, C. M.; BELCHIOR, T.; FESTUCCIA, W. T.; & GENOVESE, M. I.. Phenolic compounds from cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg) fruit attenuate glucose intolerance and adipose tissue inflammation induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, Toronto, v. 69, p. 170-178, 2015.

DUGO G, DI GIACOMO A. **Citrus**: The genus citrus. medicinal and aromatic plants-industrial profiles series. New York: Taylor & Francis Group, CRC Press. 504 p. 2002.

EL HADI, M. A. M.; ZHANG, F. J.; WU, F. F.; ZHOU, C. H.; & TAO, J. Advances in fruit aroma volatile research. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 8200-8229, 2013.

GOMEZ, M.; LAJOLO, F.; CORDENUNSI, B. Evolution of soluble sugars during ripening of papaya fruit and its relation to sweet taste. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, p. 442-447, 2002.

ITTAH, Y. Sugar content changes in persimmon fruits (*Diospyros kaki* L.) during artificial ripening with CO₂: a possible connection to deastringency mechanisms. **Food Chemistry**, Barking, v. 48, n. 1, p. 25-29, 1993

JACOMINO, A. P.; ARRUDA, M. C.; BRON, I. U.; KLUGE, R. A. Transformações bioquímicas em produtos hortícolas após a colheita. In: KOBLITZ, M. G. B. (Ed.). **Bioquímica de alimentos: Teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015, cap. 6, p. 153-189.

JAIN, N.; DHAWAN, K.; MALHOTRA, S. P.; SIDDIQUI, S.; SINGH, R. Compositional and enzymatic changes in guava (*Psidium guajava* L.) fruits during ripening. **Acta Physiologiae Plantarum**, Krakov, v. 23, n. 3, p. 357-362, 2001.

JETTI, R. R.; YANG, E.; KURNIANTA, A.; FINN, C.; QIAN, M. C. Quantification of selected aroma-active compounds in strawberries by headspace solid-phase microextraction gas chromatography and correlation with sensory descriptive analysis. **J. Food Science**. n. 72, p. 487-S496, 2007.

KADER, A. A. Fruit maturity ripening and quality relationships. **Acta Horticulturae**, New York, v. 485, p. 203–208, 1999.

KADER, A. A.; YAHIA, E. M. Postharvest biology of tropical and subtropical fruits. In: YAHIA, E. M. (Ed.) **Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits**, Cambridge: Woodhead Publishing, v.1, p. 79-111, 2011.

KAWASAKI, M. L.; LANDRUM, L. R. A rare and potentially economic fruit of Brazil. Cambuci, *Campomanesia phae* (Myrtaceae). **Economic Botany**, Lancaster, v. 51. p. 403-407, 1997.

KLUGE, R. A. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado: tratamentos complementares ao armazenamento refrigerado**. Campinas: Emopi, 2002. 214 p.

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELO, J. C.; BILHALVA, A. B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Campinas: Editora Rural, 2002. 214 p.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; SESTARI, I. **Manual de fisiologia vegetal: fisiologia de cultivos**. Piracicaba: Ceres, 2008. 864 p.

LI, S.; ANDREWS, P. K.; PATTERSON, M. E. Effects of ethephon on the respiration and ethylene evolution of sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit at different development stages. **Postharvest Biology and Technology**, New York, v. 4, n. 3, p. 235-243, 1994.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods of Enzymology**, New York, v. 148, p. 350-382, 1987.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368p.

MATHIAS, J.; ANDRADE, G. A. **Cambuci: nativa da mata atlântica, a árvore frutífera é também uma planta ornamental, mas está sob risco de extinção**, Globo Rural, 2011. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC1649492-4529,00.html>>. Acesso em 03 de abril de 2014.

MCGUIRE, R. G. Reporting of objective colour measurements. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

NIJSSEN, L.M.; VISSCHER, C.A.; MAARSE, H.; WILLEMSSENS, L.C.; BOELEN, M.H. Volatile Compounds in Foods Qualitative and Quantitative Data; **TNO Nutrition and Food Research Institute: Zeist**, The Netherlands, on-line version 9.2, 2007.

PESIS, E., IBÁÑEZ, A. M.; PHU, M.L.; MITCHAM, E. J.; EBELER, S.E.; DANDEKAR, A. M. Superficial scald and bitter pit development in cold-stored transgenic apples suppressed for ethylene biosynthesis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 57, n. 7, p. 2786-2792, 2009.

RODRÍGUEZ, A.; PERIS, J. E.; REDONDO, A.; SHIMADA, T.; COSTELL, E. CARBONELL, I.; ROJAS, C.; PEÑA, L. Impact of d-limonene synthase up- or down-regulation on sweet orange fruit and juice odor perception. **Food Chemistry**. n. 217, p. 139-150, 2017.

RIZZOLO, A.; SODI, C.; POLESELLLO, A. Influence of ethylene removal on the volatile development in Passa crassana pears stored in a controlled atmosphere. **Food Chemistry**. n. 42, 275–285, 1991.

SOZZI, G.O. Fisiología de la maduración de los frutos de especies lenhosas. In: SOZZI, G. O. (Ed.) **Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento**, 1.ed. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires, 2007. p.669–686.

TAIRA, S. Adstringency in persimmon. **Modern Methods of Plants Analysis**, Berlin, v. 18, p. 97-110, 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Trad. Santarén. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 722p.

THANG, P. T. N. **Ripening behaviour of capsicum (*Capsicum annuum* L.) fruit**. 149 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – School of Agriculture, Food and Wine, University of Adelaide, Australia, 2007.

ZHENG, L.-Y.; SUN, G.M.; LIU, Y.G.; LV, L.L.; YANG, W.X.; ZHAO, W.F.; WEI, C.-B. Aroma Volatile Compounds from Two Fresh Pineapple Varieties in China. **International Journal of Molecular Sciences**, n.13 v.6, p.7383–7392, 2012.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedure for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, Cv. 37, p. 99-105, 1998.

6. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO ARMAZENAMENTO DE CAMBUCIS

Resumo

Os frutos de cambuci apresentam uma ampla variedade de possíveis usos, desde a fabricação de sucos e geleias até a produção de aromatizantes. Sua conservação pós-colheita é imprescindível para ampliar sua vida útil, seu período de comercialização e a disponibilidade no mercado. O objetivo desse trabalho foi determinar a influência da temperatura de armazenamento na qualidade e na fisiologia pós-colheita de cambuci. Para tanto, cambucis foram armazenados na temperatura de 5 °C, 10 °C e 22 °C e as propriedades físico-químicas e padrão respiratório e produção de etileno dos frutos foram avaliados no decorrer de 12 dias. Os resultados demonstraram que o armazenamento dos frutos a baixa temperatura contribuiu para a sua conservação, prolongando sua vida útil. As informações obtidas abrem perspectivas para novos estudos e a definição de metodologia específica para a armazenagem dos frutos de cambuci.

Palavras-chave: Pós-colheita; Resfriamento; Propriedades físico-químicas

Abstract

The fruits of cambuci have a wide utility, from the manufacture of juices and jellies to the production of flavorings. Its postharvest conservation is essential to extend its shelf-life, its marketing period and market availability. The objective of this work was to determine the influence of storage temperature on quality and postharvest cambuci physiology. For this, cambucis were stored at 5 ° C, 10 ° C and 22 ° C and the physicochemical, respiratory pattern, and ethylene production of the fruits were evaluated over the course of 12 days. The results showed that the storage of fruits at low temperature contributed to their conservation, prolonging their shelf- life. The obtained information open perspectives for new studies and the definition of specific methodology for the storage of cambuci fruits.

Keywords: Postharvest; Cooling; Physicochemical proprieties

6.1. Introdução

Cambucis são frutos muito utilizados como aromatizante e no preparo de sucos, geleias e doces em calda, devido à sua polpa carnosa, suculenta, com poucas sementes e à presença de aroma intenso e adocicado (MATHIAS; ANDRADE, 2013). Além disso, são importantes fontes de taninos e outros compostos fenólicos, tais como os flavonoides (SANCHES, 2013). Todavia, apesar do excelente sabor e aroma, a elevada adstringência dos frutos, reduz sua aceitabilidade no consumo *in natura*. Sua alta perecibilidade limita ainda mais a disponibilidade e comercialização desse fruto.

Atualmente, o cambuci é comercializado na forma processada como doces e sucos, mas a principal forma de conservação é o congelamento. A comercialização do fruto congelado é realizada em embalagens de um quilo, seguindo as etapas de pré-seleção, higienização e congelamento, em que os frutos são colocados em embalagens plásticas e congelados em freezer a temperatura de -20°C (ANDRADE; FONSECA; LEMOS, 2011).

Estudos quanto à produção e conservação desses frutos são necessários uma vez que a aplicação de técnicas de conservação pode ampliar sua vida útil, seu período de comercialização e sua disponibilidade no mercado, favorecendo principalmente, a popularização do cambuci em nosso país. Dentre as técnicas mais utilizadas e prioritárias em pós-colheita, o armazenamento refrigerado é método mais efetivo para estender a vida útil dos frutos, reduzindo a velocidade do metabolismo, a incidência de doenças pela inibição do crescimento de microrganismos, as atividades enzimáticas e respiratórias e inibindo perda de água sem alterar a fisiologia do fruto, evitando, a rápida deterioração (DAMIANI et al., 2008). O princípio desta técnica é que sob temperaturas baixas ocorre a redução da mobilidade molecular, e consequentemente as reações químicas e processos biológicos ocorrem mais lentamente, sem prejudicar a fisiologia do fruto (BERK, 2009; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A vantagem da refrigeração é que se amplia o tempo entre a colheita e a comercialização, possibilitando os transportes mais demorados e até exportações, cujo frete tem custo menor, aumentando sua competição no mercado internacional (LIMA et al., 2006). Contudo, o período e a temperatura de armazenamento variam em função do estágio de maturação ou de espécie para espécie. Contudo, em frutos de origem tropical e subtropical, o armazenamento refrigerado por período prolongado pode ocasionar o aparecimento de distúrbios fisiológicos que afetam negativamente a sua qualidade, assim que eles são transferidos à condição ambiente (KLUGE et al., 1996, CHITARRA & CHITARRA, 2005). Por isto determinar a temperatura mínima de segurança para o armazenamento de cada espécie de fruto sensível ao frio representa a principal forma de se evitar que as injúrias pelo frio se desenvolvam e comprometam sua qualidade (LURIE, 1998).

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi determinar a influência da temperatura de armazenamento na qualidade e na fisiologia pós-colheita de cambuci. Aliado aos estudos sobre ponto de colheita do cambuci, vislumbra-se a melhora na sua pós-colheita através de tecnologias básicas, tais como o armazenamento refrigerado para conservação dos frutos frescos.

6.2. Material e Métodos

Os cambucis [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum] foram colhidos em junho de 2015 em um pomar comercial no município Salesópolis – SP (23°31'S e 45°50'W e 812 m de altitude) com ponto de colheita ‘maduro colhido na planta’. Os frutos foram acondicionados em caixas de papelão forradas com plástico “bolha” e transportados em carro com ar condicionado ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) para o Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Hortícolas, do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP em Piracicaba, SP, a 250 de distância de Salesópolis.

No laboratório o lote foi homogeneizado a partir da retirada de frutos com podridões, ferimentos e em diferentes estádios de maturação. Na sequência, uma parte dos frutos foi utilizada para análise de caracterização (dia 0) e a outra foi separada em 3 lotes que foram submetidos às diferentes temperaturas de armazenamento em câmaras refrigeradas reguladas a 5, 10 e $22 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, com a umidade relativa de $85 \pm 5\%$ por até 12 dias. A partir do 4º dia foram feitas análises somente com os frutos armazenados a temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, pois os frutos de $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ senesceram.

Os frutos foram avaliados diariamente quanto à atividade respiratória, produção de etileno e incidência de podridão. A cada 3 dias foram avaliadas a firmeza da polpa, coloração da casca, perda de massa, teores de sólidos solúveis, teor de ácido ascórbico e acidez titulável. As análises de respiração e produção de etileno foram realizadas até o 11º dia, pois os frutos utilizados nesta análise senesceram antes, e os mesmos frutos foram avaliados do início ao fim do experimento, não foram substituídos porque o objetivo era acompanhar o comportamento de diferentes frutos, individualmente, ao longo do armazenamento, evitando o risco de erros amostrais, como amostrar um fruto mais ou menos maduro que expressaria uma evolução errada do amadurecimento.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado num esquema fatorial 3x5 perfazendo um total de 3 tratamentos, 5 dias de avaliação (dias 0, 3, 6, 9 e 12) com 3 repetições constituídas de 5 frutos cada. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo Teste F.

6.2.1. Metodologias de análise

Atividade respiratória e produção de etileno: 3 frutos de cada tratamento foram destinados para esta análise, sendo colocados individualmente em recipientes herméticos de vidro com capacidade de 600 mL e avaliado separadamente para compor 4 repetições. Após 1 h, 1 mL de gás foi coletado dos recipientes através de um septo de silicone, com auxílio de uma seringa (Hamilton, Gastight, EUA). As amostras de gases foram analisadas em cromatógrafo (ThermoFinnigan Trace 2000GC). A respiração e a produção de etileno foram determinadas pela diferença entre a concentração gasosa inicial e final, sendo expressas, respectivamente, em $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ de CO_2 e $\mu\text{L kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ de C_2H_4 .

Coloração da casca: determinada com colorímetro (Minolta CR-300, Osaka, Japão) com a seguinte configuração: sistema de cor $L^* a^* b^* C^* h^\circ$, iluminante D65 e observador padrão 2°. Tomando-se duas leituras por fruto na face superior. Na interpretação dos resultados foram utilizadas as variáveis Cromaticidade (C^*) e ângulo de cor ($^\circ\text{hue}$). A coloração da casca em cambuci se altera sutilmente ao longo do amadurecimento, passando de tonalidade mais escuras de verde, até tons de verde-amarelado, por isto aliado ao ângulo de cor (h°) que expressa a mudança da tonalidade em graus ($90^\circ = \text{amarelo}$, $180^\circ = \text{verde}$), optou-se por utilizar a variável de cromaticidade indica quão intensa ou pura é determinada cor (MCGUIRE, 1992).

Firmeza da polpa: determinada com o auxílio de penetrômetro digital, marca Tr-Turoni, Forli-Itália (Sammar – 53200), com ponteira de 8 mm de diâmetro. Os frutos foram partidos longitudinalmente e foram realizadas 2 leituras nas extremidades opostas, sendo elas expressas em Newton (N).

Perda de massa fresca: quantificada pela diferença entre a massa inicial e a massa final da amostra, em balança semi-analítica, com resultados expressos em porcentagem.

Incidência de podridão: avaliada visualmente, pela contagem do número de frutos com presença de lesões com diâmetro maior ou igual a 0,5 cm, com resultados expressos em porcentagem. Amostras de frutos foram enviadas ao Laboratório de Epidemiologia da ESALQ/USP para identificação de gêneros de fungos.

Teor de sólidos solúveis: determinado com o auxílio do refratômetro digital Atago modelo Palette 101, Tóquio, Japão, utilizando-se polpa homogeneizada e filtrada em gaze. Foram realizadas duas leituras por repetição e os resultados foram expressos em $^\circ\text{Brix}$.

Acidez titulável: determinada por titulometria de neutralização, na qual 10 g de polpa foram homogeneizadas em 90 mL de água destilada. A solução foi titulada com NaOH 1 N, até

pH 8,10 em pHmetro digital (Tecnal, Tec 03 MP). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico.

Ácido ascórbico: determinada por titulometria de redução, na qual 5 g de polpa foram homogeneizadas em 25 mL de ácido oxálico. A titulação da solução foi feita com 2,6 dicloro-fenol-indofenol de sódio, até a viragem de cor.

6.3. Resultados de Discussão

A atividade respiratória e a produção de etileno dos frutos de cambuci variaram de acordo com a temperatura de armazenamento no decorrer dos dias de armazenamento (Tabela 6.1). Entretanto, a diferença foi significativa apenas de maneira independente entre as temperaturas de armazenamento e os dias de análise.

Tabela 6.1 – Análise de variância (ANOVA) pelo teste F para as análises de frutos de cambucizeiros armazenados sob três temperaturas (5, 10 e 22 °C) no decorrer de 11 dias após a colheita

Variáveis	Causas da Variação			Média Geral	C.V. (%)
	TEMP	D	TEMP x D		
----- Valor de F -----					
Atividade respiratória	46,40*	4,48*	1,40 ^{ns}	41,99	69,85
Produção de etileno	28, 84*	3,67*	1,65 ^{ns}	39,46	88,07
Sólidos Solúveis (SS)	230,83*	77,34*	78,91*	8,52	6,97
Acidez Titulável (AT)	519,61*	286,70*	177,16*	2,67	4,32
Ratio (SS/AT)	133,22*	30,71*	52,51*	2,72	9,50
Ácido ascórbico	36,89*	24,02*	14,24*	34,10	16,63
Cor da casca (Ângulo Hue)	895,81*	350,46*	308,56*	92,51	3,44
Cromaticidade	66,63*	22,69*	8,53*	13,43	16,68
Firmeza da polpa	16,05*	59,65*	4,71*	0,94	20,45
Perda de massa	26,60*	14,75*	7,75*	3,23	50,22
Podridão	87,44*	16,99*	12,45*	13,40	68,25

* significativos 5 % de probabilidade pelo teste F. Atividade respiratória: mL kg⁻¹h⁻¹ de CO₂; Produção de etileno: µL kg⁻¹h⁻¹ de C₂H₄; Sólidos Solúveis: °Brix; Acidez Titulável: % de ácido cítrico; Firmeza da polpa: N; Vitamina C: mg ác. ascórbico 100 g⁻¹; Perda de massa: % de perda; Podridão: índice de podridão. TEMP = temperatura de armazenamento; D = dias após o armazenamento.

A elevação da temperatura causa um aumento exponencial na respiração e causa redução da vida útil das frutas e hortaliças compatível com os efeitos da temperatura sobre a respiração na maioria dos produtos vegetais (CALBO; MORETTI; HENZ, 2007). De modo

geral, a atividade respiratória dos frutos submetidos às diferentes temperaturas seguiu um padrão ao longo do armazenamento, onde apenas no primeiro dia após o armazenamento a concentração de CO_2 apresentou uma diferença acentuada entre os tratamentos (Figura 6.1 A). Os frutos do controle (22°C) apresentaram valores próximos a $30 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de CO_2 , enquanto para os tratamentos de 10°C e 5°C , aproximadamente $15 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de CO_2 e $10 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ de CO_2 foram verificados. Estes resultados evidenciam o efeito da temperatura na diminuição do metabolismo dos frutos, sendo possível observar que a produção de CO_2 correlaciona-se positivamente com o aumento da temperatura (Figura 6.1 A).

Figura 6.1 – Atividade respiratória (A) e produção de etileno (B) de cambucis em função dos dias de armazenamento sob diferentes temperaturas, 5°C , 10°C e Controle = 22°C . Barras verticais representam o erro padrão da média ($n = 3$).

A partir do 9º dia de armazenamento foi notada a elevação da produção de CO_2 , principalmente na temperatura de 10°C , podendo ser resposta a senescência avançada dos frutos. Inclusive, essa elevação pode estar relacionada a desordens fisiológicas causada pelo frio, que geralmente acontecem como uma forma de reparo do tecido ao dano nas membranas e estruturas subcelulares (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Sintomas similares a danos de frio foram observados nos frutos armazenados a 10°C a partir do nono dia de armazenamento (Figura 6.2).

A baixa temperatura afetou a resposta da produção de etileno nos cambucis (Figura 6.1 B). Frutos armazenados a 10°C , com exceção para o primeiro dia de análise, apresentaram menor produção de etileno que frutos armazenados a 5°C (Figura 6.1 B). Esta produção mais elevada em frutos armazenado a 5°C pode indicar que a produção de etileno pode relacionar-se com o estresse devido à baixa temperatura. Enzimas ligadas às membranas, como a ACC oxidase, são mais sensíveis à temperatura que as citosólicas e sob temperaturas extremas

podem ocasionar o aumento na produção de etileno devido ao estresse (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os níveis de etileno avaliados nos cambucis não são considerados baixos para esta condição de baixa temperatura (5 e 10°). De acordo com Sozzi et al. (2007) a taxa de produção de etileno é classificada como moderada em temperatura de 20 °C, quando os valores variam entre 1 a 10 $\mu\text{LKg}^{-1} \text{h}^{-1}$ de C_2H_4 .

Figura 6.2 – Cambucis armazenados nas temperaturas de 5 °C, 10 °C e 22 °C a 85 ± 5 % UR, durante 12 dias. Destaque para sintomas similares aos danos causados pelo frio nos dias 9 e 12, no armazenamento a 10 °C.

As características físico-químicas dos frutos de cambuci variaram de acordo com a temperatura de armazenamento no decorrer dos dias. Houve interação significativa entre as temperaturas e os dias de armazenamento para todas as variáveis analisadas (Tabela 6.1). Os frutos que foram armazenados a temperatura ambiente de 22 °C senesceram no dia 4.

O armazenamento refrigerado contribuiu para que o teor de sólidos solúveis e a acidez titulável não apresentassem variação em função dos dias de armazenamento. Os valores de SS variaram entre 9,27 a 10,50 °Brix (Figura 6.3 A) enquanto que os valores de AT (Figura 6.3 B) variaram entre 2,85 e 3,34 %. A principal diferença observada foi no 3° dia para AT, onde nota-se que temperaturas mais baixas preservaram acidez (Figura 6.3 B). O efeito da temperatura sobre estas variáveis é mais evidente quando expressado através do *ratio* (relação SS/AT), que um importante indicador de sabor (Figura 6.4).

Figura 6.3 – Teores de sólidos solúveis (A) e valores de acidez titulável (B) da polpa de cambucis em função dos dias de armazenamento sob diferentes temperaturas, 5 °C, 10 °C e Controle = 22 °C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3).

O *ratio* relaciona o balanço entre açúcares e ácidos presente nas frutas, tende a aumentar durante o período de maturação e armazenamento, devido a diminuição da AT e ao aumento nos teores de SS (KLUGE, 2002). A diferença na relação SS/AT indicou maior amadurecimento nos frutos do controle. A partir do 3º dia, os frutos do controle não apresentavam mais qualidade para o consumo, enquanto que os frutos submetidos às demais temperaturas não evoluíram em relação ao *ratio*, mantiveram-se até o último dia sem diferirem entre si (Figura 6.4).

Figura 6.4 – Valores de *Ratio* (SS/AT) da polpa de cambucis em função dos dias de armazenamento sob diferentes temperaturas, 5 °C, 10 °C e Controle = 22 °C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3).

O aumento na relação SS/AT ocorreu em função da diminuição da acidez (Figura 6.3 B) que possivelmente foi uma resposta ao leve incremento da taxa respiratória dos frutos entre os dias 3 e 6 do armazenamento (Figura 6.1 A). Este incremento é esperado durante o armazenamento, uma vez que o fruto continua suas atividades metabólicas e através da respiração os ácidos orgânicos são utilizados nas reações de oxidação (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Quanto ao teor de ácido ascórbico, nota-se uma tendência de aumento do dia 0 para o dia 3 em todos os tratamentos, no entanto esse aumento foi significativo apenas em frutos do tratamento controle (Figura 6.5). No sexto dia, houve aumento no conteúdo de ácido ascórbico nos frutos armazenados a 5 °C. O comportamento decrescente, geralmente pode ser explicado pelo amadurecimento, visto que, durante o processo de maturação, é esperado que o teor de ácido ascórbico diminua, devido à oxidação dos ácidos orgânicos (BUTT, 1980). No entanto, para alguns frutos, como o pedúnculo do caju, valores mais altos são alcançados no final do amadurecimento, quando atinge cerca de 250 mg 100 g⁻¹ (MOURA et al, 2013).

Os níveis de ácido áscorbico obtidos neste experimento são considerados baixos, mas estão de acordo com o encontrado por Bianchini et al. (2016) em estudo com 120 acessos de cambucis, que variaram de 25,62 mg 100 g⁻¹ a 127,40 mg 100 g⁻¹. A temperatura neste caso estaria retardando os processos de síntese e degradação deste ácido. No terceiro dia os cambucis armazenados a 22 e a 10 °C atingiram o teor máximo de ácido ascórbico, enquanto que os frutos a 5 °C alcançaram a produção mais elevada no sexto dia. A temperatura de 10 °C manteve constante o teor de ácido ascórbico do cambuci até nono dia.

Figura 6.5 – Teores de ácido ascórbico da polpa de cambucis em função dos dias de armazenamento sob diferentes temperaturas, 5 °C, 10 °C e Controle = 22 °C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3).

De acordo com os valores de ângulo de cor ($^{\circ}\text{h}$) (Figura 6.6 A), a temperatura de 5 °C resultou em frutos mais amarelados, mas para ambos tratamentos (5 e 10°C) a coloração evoluiu de forma semelhante, alcançando no último dia os valores de 100,33 e 106,28 ($^{\circ}\text{h}$), respectivamente. Estes valores correspondem a uma coloração verde-amarelada, porém no último dia os frutos estavam com aspecto escurecido (Figura 6.2).

Figura 6.6 – Valores ângulo de cor (A) e de cromaticidade (B) da casca de cambucis em função dos dias de armazenamento sob diferentes temperaturas, 5 °C, 10 °C e Controle = 22 °C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3).

Ao considerar a variável cromaticidade (Figura 6.6 B), observou-se que embora a tonalidade dos frutos submetidos às diferentes temperaturas (5 e 10 °C) fosse equivalente na maioria dos dias, a intensidade da cor da casca a 5 °C foi maior. A coloração verde-amarelada foi mais intensa a 5 °C, enquanto no controle e a 10 °C os frutos aparentam ser mais escuros, ou acinzentados (Figura 6.2). Os valores de $^{\circ}\text{hue}$ e C^* dos tratamentos 5 e 10 °C a partir do nono dia de avaliação se igualam aos do controle no terceiro dia, evidenciando a preservação dos frutos a baixa temperatura.

O uso da baixa temperatura também contribuiu para manutenção da firmeza da polpa do cambuci por um período maior. Os frutos armazenados a 5 e 10 °C, apenas no 9º dia, atingiram o mesmo valor de firmeza que os frutos do controle, no seu último dia de armazenamento (dia 3) (Figura 6.7).

Figura 6.7 – Valores de firmeza da polpa de cambucis em função dos dias de armazenamento sob diferentes temperaturas, 5 °C, 10 °C e Controle = 22 °C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3).

O aspecto da polpa, com destaque para o dia 6, evidenciou a preservação da sua firmeza e a partir deste dia os processos citados a cima, provavelmente associados levaram ao amolecimento que já impossibilitaria a comercialização (Figura 6.8). Assim como a coloração, os valores de firmeza dos tratamentos 5 e 10 °C a partir do nono dia de avaliação se igualaram aos dos frutos do tratamento controle no terceiro dia, demonstrando a preservação dos frutos a baixa temperatura (Figura 6.7). Durante o amadurecimento dos frutos a perda da firmeza pode ser atribuída pela perda de água, que diminui a pressão de turgescência nos tecidos ou pela solubilização das pectinas constituintes da parede celular (BARRETT; GONZALEZ, 1994; JAIN et al., 2001).

Figura 6.8– Aspecto da polpa de cambucis submetidos ao armazenamento refrigerado a 5 °C e 10 °C e controle (22 °C) pelo período de 12 dias.

A perda de massa aumentou ao longo dos dias, sendo observada menor perda nos frutos de armazenamento a temperatura de 5 °C (Figura 6.9), podendo estabelecer a relação de que quanto menor temperatura, menor perda de massa. A perda de massa pode ser atribuída à perda de umidade e de material de reserva, pela transpiração e respiração respectivamente, sendo um dos principais fatores limitantes da vida útil dos frutos (MENEZES et al., 1995). Esta também causa prejuízos à qualidade, principalmente pelas alterações na textura, como o murchamento (VICENTINI et al., 1999), que foi observado nos frutos a partir do nono dia de armazenamento (Figura 6.8). Aliado aos outros resultados, o murchamento a partir do nono dia server com um determinante para qualidade do cambuci armazenamento, cabe dizer que nove dias seria o tempo máximo de armazenamento sob estas condições propostas.

Figura 6.9 – Valores de perda de massa de cambucis em função dos dias de armazenamento sob diferentes temperaturas, 5 °C, 10 °C e Controle = 22 °C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3).

A longevidade dos frutos de cambuci foi influenciada pela temperatura de armazenamento no decorrer dos dias após a colheita. Houve interação significativa entre as temperaturas e os dias transcorridos após o armazenamento para a podridão dos frutos (Tabela 6.1). A baixa temperatura (5 °C) inibiu o desenvolvimento de patógenos nos frutos e reduziu significativamente a incidência de podridões dos frutos armazenados a 10 °C. Os frutos armazenados a temperatura ambiente (22 °C) apresentaram uma incidência destacadamente superior que os frutos que permaneceram a 5 °C e a 10 °C (Figura 6.10).

A evolução dos sintomas resultou em escurecimento, amolecimento da polpa e extravasamento celular (Figura 6.11). Foi identificada a presença dos fungos dos gêneros: *Colletotrichum*, *Rhizopus*, *Penicillium* e *Aspergillus*. Apenas obteve-se a informação de quais

fungos estavam presentes nas amostras de frutos, sem descrição de qual tratamento foi acometido em maior intensidade por um determinado gênero.

Figura 6.10 – Incidência de podridões de cambucis em função dos dias de armazenamento sob diferentes temperaturas, 5 °C, 10 °C e Controle = 22 °C. Barras verticais representam o erro padrão da média (n = 3).

Todos os gêneros de fungos citados são responsáveis por doenças pós-colheita. O *Aspergillus* se caracteriza por uma infecção pulverulenta de esporulação preta (PALENCIA et al., 2010); o *Colletotrichum* causa podridões firmes com evolução lenta (MADIA et al., 2017); o *Rhizopus* geralmente penetra no fruto por ferimentos, causando o amolecimento da polpa, a coloração geralmente é marrom que desenvolve em um mofo negro (MADIA et al., 2017), e *Penicillium* causa podridões circulares, moles e úmidas, com expansão rápida que varia de pardo clara ao marrom escuro de acordo com a epiderme do fruto. As podridões geralmente se desenvolvem rapidamente quando a fruta está madura e a temperatura ambiente (DOBRA et al., 2007), assim como os resultados representaram.

Figura 6.11– Sintomas de doenças em cambucis descartados ao longo do experimento.

6.4. Conclusão

O armazenamento refrigerado reduziu o metabolismo dos frutos. Sob menor temperatura houve redução da produção de CO₂. Mesmo sob baixa temperatura as progressões no amadurecimento dos frutos foram mantidas até o terceiro dia de armazenamento, a partir deste dia a qualidade é preservada até o nono dia. A refrigeração prolongou a vida útil do cambuci em 6 dias, reduzindo e inibindo o desenvolvimento de patógenos.

Contudo, as temperaturas de 5 e 10 °C não são recomendadas para o armazenamento do cambuci. O comportamento alterado da produção de etileno, somado aos sintomas característicos de dano de frio, indicam um estresse ocasionado pela baixa temperatura. Investigações mais aprofundadas sobre a fisiologia do fruto sob baixas temperaturas precisam ser realizadas para se fazer uma recomendação segura da temperatura de armazenamento.

Referências

- ANDRADE, B. A. G.; FONSECA, P. Y. G.; LEMOS, F. **Cambuci – o fruto, a rota, cultura, sustentabilidade e gastronomia**. São Paulo: Ourivesaria da Palavra. 2011. 176p.
- BARRETT, M.D.; GONZALEZ, C. Activity of softening enzymes during cherry maturation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.3, p.574–577, May. 1994.
- BERK, Z. **Food process engineering and technology**. San Diego: Elsevier, 2009. 622p.
- BIANCHINI, F. G.; BALBI, R.V.; PIO, R.; SILVA, D.F.; PASQUAL, M.; VILAS BOAS, E.V.B. Caracterização morfológica e química de frutos de cambucizeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 1, p. 10-18, Mar. 2016.
- BUTT, V. S. Direct oxidases and related enzymes. In: STUMPF, P. K.; CONN, E. E. (Ed.). **The biochemistry of plants: a comprehensive treatise**. New York: Academic, 1980. v. 2, p. 81-123.
- CALBO, G. C.; MORETTI, C. L.; HENZ, G. H. **Respiração de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa, 2007. p. 10. (Comunicado técnico, 46).
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785p
- DAMIANI, C.; VILAS BOAS, E. V. B.; SOARES JUNIOR, M. S.; CALIARI, M.; PAULA, M. L.; PEREIRA, D. E. P.; SILVA, A. G. M. Análise física, sensorial e microbiológica de geleias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, p. 1418-1423, 2008.

DOBRA, A. C.; ROSSINI, M.N.; BARNES, N.Y.; SOSA, M.C. Manejo integrado de enfermedades de los frutales de pepita. In: SOZZI, G. O. (Ed) **Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento**. 1.ed. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires, 2007. p.669–686.

JAIN, N.; DHAWAN, K.; MALHOTRA, S.P.;SIDDQUI, S.; SINGH, R. Compositional and enzymatic changes in guava (*Psidium guajava*L.) fruits during ripening. **Acta Physiologiae Plantarum**, Krakov, v. 23, n. 3, p. 357-362, 2001.

KLUGE, R. A.; RODRIGUES, S.; KALIL, G. P. C.; RUSSO, R.; LUCAS, M. B.; MINAMI, K. Influência do estágio de maturação e da cobertura com polietileno na conservação de tomates frigorificados. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.53, n.1, p.6-13, 1996.

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELO, J. C.; BILHALVA, A. B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Campinas: Editora Rural, 2002. 214 p.

LIMA, M. A. C. ; SILVA, A. L.; AZEVEDO, S. S. N.; SANTOS, P. S. Tratamentos pós-colheita com 1-metilciclopropeno em manga ‘Tommy Atkins’: efeito de doses e número de aplicações. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 64-68, 2006.

LURIE, S. Postharvest heat treatments. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 14, p. 257-269, 1998.

MADIA, M. S. L.; GAETÁN, S. A.; MOYANO, M. I. Manejo integrado de enfermedades de los frutales de carozo. In: SOZZI, G. O. (Ed.) **Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento**. 1.ed. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires, 2007. p.669–686.

MATHIAS, J.; ANDRADE, G. A. Cambuci: nativa da mata atlântica, a árvore frutífera é também uma planta ornamental, mas está sob risco de extinção, **Globo Rural**, 2011. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC1649492-4529,00.html>>. Acesso em 03 de abril de 2014.

MCGUIRE, R. G. Reporting of objective colour measurements. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.12, p.1254-1255, 1992.

MENEZES, J. B.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F.; CARVALHO, H. A. Caracterização pós-colheita do melão amarelo "Agroflora 646". **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.13, n.2, p.150-153, 1995.

MOURA, C. F. H.; ALVES, R. E.; SILVA, E. O.; LOPES, M. M. A. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do cajueiro**. 2. ed. rev. ampl. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. 31p. (Documentos, 17).

PALENCIA, E. R.; HINTON, D. M.; BACON, C. W. The black *Aspergillus* species of maize and peanuts and their potential for mycotoxin production. **Toxins**, Rockville, v. 2, p. 399-416, 2010,

SANCHES, M. C. R; **Caracterização do fruto de cambuci (*Campomanesia phea* O. Berg.) e efeito da destanização sobre o potencial funcional *in vitro***. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos e Nutrição Experimental) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo 2013.

SOZZI, G.O. Fisiología de la maduración de los frutos de espécies lenhosas. In: SOZZI, G. O. (Ed). **Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento**. 1.ed. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires, 2007. p.669–686.

VICENTINI, N. M.; CEREDA, M. P.; CAMARA, F. L. A. Revestimentos de fécula de mandioca, perda de massa e alteração da cor de frutos de pimentão. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.3, p. 713-716,1999.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cambuci é um fruto com importante potencial para exploração, com sabor acentuado ácido e adstringente, e composição que traz benefícios para saúde, principalmente por sua ação antioxidante. Por ser uma espécie nativa, seu cultivo é facilmente adaptável na sua região de origem, contribuindo no âmbito social e sustentável, pois pode gerar trabalho e renda para a população local e preservação da espécie e da fauna natural.

Os resultados apresentados neste trabalho, de forma inédita, propõem uma alternativa à colheita usualmente realizada pelos produtores, que consiste na coleta dos frutos após a sua queda natural no solo. Após reconhecer que o padrão respiratório é de um fruto não-climatérico, foi definido que ponto de colheita adequado para o cambuci é quando estes encontram-se com coloração verde-amarelada e região equatorial levemente arredondada, portanto, maduros antes de sua abscisão natural.

A qualidade pós-colheita dos cambucis colhidos neste estágio foi igual ou superior aos coletados no solo. As principais vantagens são representadas pelo maior conteúdo de vitamina C e maior vida-útil dos frutos. Se associada a técnica de armazenamento refrigerado a vida-útil do cambuci pode ser prolongada em até 6 dias. No entanto estudos sobre a fisiologia do fruto sob baixas temperaturas ainda são necessários, afim de se recomendar seguramente a temperatura de armazenamento. Para as temperaturas utilizadas neste trabalho, o comportamento alterado da produção de etileno, somado aos sintomas característicos de dano de frio, indicou um estresse ocasionado pela baixa temperatura.